

République Algérienne Démocratique et Populaire

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

École Nationale Supérieure Agronomique – El Harrach- Alger

المدرسة الوطنية العليا للزراعة - الحراش - الجزائر

THESE

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat 3ème cycle en Sciences Agronomiques

Département : Productions Végétales

Spécialité : Production et Amélioration Végétales

Option : Ressources Génétiques et Amélioration des Productions Végétales

Caractérisation agronomique et moléculaire de populations algériennes de
dactyle (*Dactylis glomerata* L.) et de fétuque élevée (*Festuca
arundinacea* Schreb.)

Présentée par : M^{elle} BENFRIHA Hadjer

Soutenu le : 28/07/2021

Devant le jury :

Président : M. KHELIFI L.

Pr. ENSA - EL HARRACH

Directeur de thèse : M. MEFTI M.

Pr. ENSA - EL HARRACH

Examineurs : M. BAHLOULI F.

Pr. Université de Bordj bouarreridj

M^{me} BENKHERBACHE N.

M.C.A. Université de M'Sila

Dédicace

Du profond de mon cœur je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers

À ma chère mère

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Je vous remercie pour tous le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices. Puisse Dieu le très haut vous accorder santé, bonheur et longue vie.

À la mémoire de mon père

Ce travail est dédié à mon cher père décédé qui m'a toujours soutenu et me motivé dans mes études, tu es la lumière de mes yeux et le secret de ma force : Chaque ligne de cette thèse, chaque mot et chaque lettre vous exprime l'amour, la reconnaissance, le respect, et le merci d'être mon cher papa, que dieu vous accueille de son vaste paradis.

À mon bien aimé mon fiancé MOHAMED EL BACHIR J'aimerais bien que tu trouves dans ce travail l'expression de mes sentiments d'amour.

À l'unique et chère sœur Soumia et ses enfants Noussaïba, Ibrahim et Djaber

À mes amies et mes sœurs de cœur (Djihad, Sarah et Imane), mes collègues et toutes les personnes qui ont participé à l'élaboration de ce travail, à tous ceux que j'ai omis de citer.

Remerciements

En premier lieu, je tiens à remercier, DIEU LE TOUT PUISSANT ET LE PLUS MISERICORDIEU pour toutes ces bénédictions qu'il m'a offertes.

Il est agréable d'exprimer ma profonde gratitude à Mr.Mefti Mohammed mon directeur de thèse pour son entière disponibilité, ses conseils, ses orientations. Qu'il soit remercié pour sa gentillesse, pour les nombreux encouragements et pour le soutien qu'il m'a prodigué.

Mes vifs remerciements s'adressent à Monsieur KHELIFI Lakhdar d'avoir accepté de présider le jury de ce travail et à Mr BAHLOULI Faycal et Madame BENKHERBACHE Nadjat qui ont bien voulu examiner ce travail.

Mes sincères remerciements s'adressent aussi à Dr BUSHMAN Shaun, THORSTED Kim ainsi que à Dr ROBBINS Matthew et à toute l'équipe du Laboratoire « Forage and Range Research Laboratory » (USDA-ARS, USA) pour leur excellente assistance pour de la réalisation de l'analyse moléculaire durant la période de stage.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à l'unité de recherche pluridisciplinaire des prairies et plantes fourragères de Poitou- Charentes (Lusignan, France) pour la fourniture des semences de dactyle et de fétuque élevée que nous avons utilisé pour la réalisation de cette thèse et aussi aux deux étudiantes de master Melle BARKAT Ahlame et AKROUCHI khadidja pour leur sérieux et leur contribution à la réalisation de cette thèse.

Des remerciements particuliers à Mr MARGHOUB Taha le président de la fondation « Algerian American Fondation » pour son précieux aide et son encouragement durant la période de stage aux états unis.

Je tiens aussi à remercier vivement tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'achèvement de ce travail, qu'ils trouvent ici l'expression de mes profondes reconnaissances.

Sommaire

Introduction générale.....	1
Chapitre I : Revue bibliographique	4
1 Situation de la production fourragère en Algérie	5
1.1 Les prairies naturelles.....	5
1.2 La jachère	5
1.3 Les parcours steppiques et forestiers.....	6
1.4 Les fourrages cultivés.....	6
2 Le bilan fourrager	7
3 Présentation des espèces	9
3.1 Le Dactyle	9
3.1.1 Présentation de <i>Dactylis glomerata</i> L.	9
3.1.2 Origine et répartitions géographiques.....	10
3.1.3 Caractéristiques biologiques	10
3.1.4 Intérêt agronomique de <i>Dactylis glomerata</i> L.	12
3.1.5 Croissance, production et valeur nutritive de <i>Dactylis glomerata</i> L	12
3.2.1 Présentation générale du genre <i>Festuca</i>	13
3.2.2 Présentation de <i>Festuca arundinacea</i> Schreb.	14
3.2.3 Origine et répartitions géographiques de <i>Festuca arundinacea</i> Schreb.....	15
3.2.4 Caractéristiques biologiques de <i>Festuca arundinacea</i> Schreb.	15
3.2.5 Intérêt agronomique, Croissance et valeur nutritive de <i>Festuca arundinacea</i> Schreb ...	16
4 La sélection des graminées pérennes	17
4.1 La tolérance à la pâture	17
4.2 La précocité.....	18
4.3 La qualité fourragère	18
4.4 La tolérance au déficit hydrique et aux hautes températures	19
4.4.1 Mécanismes de tolérance des plantes à la sécheresse.....	21
4.4.1.1 L'esquive ou l'échappement	21
4.4.1.2 L'évitement de la déshydratation.....	21
4.4.1.3 La tolérance de la déshydratation.....	22
4.4.1.4 La dormance estivale	24
5 Etude de la diversité génétique chez les espèces fourragères	27

5.1	Le géotypage par séquençage (GBS)	28
5.1.1	Principe de la méthode de GBS :	28
5.1.2	Avantages de la méthode de GBS.....	30
5.1.3	Autres application de la méthode de GBS.....	31
5.1.4	Limites de la méthode GBS	31
5.2	La découverte des SNP.....	31
5.2.1	Conception générale de « UNEAK »	32

Chapitre II : Évaluation agronomique de quelques géotypes de dactyle (*Dactylis glomerata* L.) et de fétuque élevée (*Festuca arundinacea* Schreb.)

Introduction	35
Matériels et méthodes	36
1 Site expérimental	36
2 Matériel végétal	37
2.1 Le Dactyle	37
2.2 La fétuque élevée.....	38
3 Conditions climatiques des campagnes d'étude	41
4 Dispositif expérimental	42
5 Conduite de l'essai	44
6 Notations réalisées.....	44
6.1 Paramètres morpho- phonologiques.....	44
6.2 Paramètres en relation avec la production fourragère	45
6.3 Paramètres en relation avec la pérennité.....	45
6.4 Efficience d'utilisation d'eau.....	45
Résultats et discussions.....	47
1 Etude de la variabilité des caractères d'intérêt fourrager.....	47
1.1 Le rendement en matière fraîche et sèche	47
1.2 La hauteur de la végétation et la précocité à l'épiaison	55
1.3 La persistance de la végétation (% de recouvrement)	60
1.4 L'efficience d'utilisation de l'eau (EUE).....	63
2 Classification des géotypes et Analyse en composante principale (ACP).....	66
Conclusion	70

Chapitre III: Etude du comportement et de la tolérance à la sécheresse de quelques géotypes de dactyle (*Dactylis glomerata* L.) et de fétuque élevée (*Festuca arundinacea* Schreb)

Introduction	73
Matériels et méthodes	75
1 Site experimental	75
2 Matériel végétal	76
3 Dispositif expérimental	76
4 Gestion de l'essai.....	78
5 Entretien de l'essai	79
6 Estimation des besoins hydriques.....	79
7 Application du stress hydrique	80
8 Notations réalisées.....	82
8.1 Paramètres morpho-phénologiques	82
8.1.1 La surface foliaire	82
8.1.2 La biomasse aérienne.....	82
8.1.3 La biomasse racinaire	82
8.2 Paramètres biochimiques et physiologiques	82
9 Analyses statistiques	83
Résultats et discussion	84
1 Etude de la variabilité morphologique des génotypes face au stress hydrique.....	84
1.1 Effet sur la surface foliaire.....	84
1.2 Effet sur la biomasse aérienne sèche	89
1.3 Effet sur la biomasse racinaire sèche	92
2 Etude de la variabilité biochimique et physiologique des génotypes face à la contrainte hydrique	95
2.1 Action du stress hydrique sur la teneur relative en eau.....	95
2.2 Action du stress hydrique sur la stabilité membranaire	100
2.3 Action du stress hydrique sur la synthèse des pigments chlorophylliens dans les feuilles.....	105
➤ La chlorophylle (a)	105
➤ La chlorophylle (b).....	108
2.4 Action du stress hydrique sur l'accumulation des osmoregulateurs	111
2.4.1 Action sur l'accumulation de la proline	111
2.4.2 Action sur l'accumulation des sucres solubles totaux	116
3 Classification des génotypes et Analyse en composantes principales (ACP).	121
Conclusion.....	125

Chapitre IV : Caractérisation moléculaire des populations de dactyle (*Dactylis glomerata* L.) et de fétuque élevée (*Festuca arundinacea* Schreb.) : détermination du niveau de ploïdie et analyse de la diversité génétique par génotypage par séquençage (GBS).

Introduction	129
Matériels et méthodes	130
1. Le matériel végétal	130
2. Analyse de la ploïdie par cytométrie en flux	130
2.1 Principe d'analyse.....	130
2.2 Préparation du matériel végétal pour l'analyse.....	130
3 Séquençage et génotypage	132
3.1 Isolation d'ADN et quantification	132
3.2 Analyse de diversité génétique par la méthode GBS	132
➤ La digestion enzymatique	132
➤ La ligation des adaptateurs.....	132
➤ Mélange des produits ligaturés	133
3.3 Analyse des données	133
3.3.1 Analyse bioinformatique	133
3.3.2 Analyse de la diversité génétique	134
Résultats et discussions.....	136
1 Détermination du niveau de ploïdie	136
2 Analyse de génotypage par séquençage.....	138
3 Analyse de la diversité génétique	139
4 Classification des accessions	141
Conclusion	148
Conclusion générale	149
Références bibliographiques	154
Liste des annexes	171

Liste des figures

Chapitre I

Figure 1: Illustration botanique de l'espèce <i>Dactylis glomerata</i> L.....	11
Figure 2 : présentation de l'espèce <i>Festuca arundinacea</i> Schreb	16
Figure 3 : Stratégies d'adaptation des plantes herbacées à la sécheresse (De Leonardis <i>et al.</i> , 2010). .	20
Figure 4 : Réponses schématiques à l'intensification de la sécheresse chez les graminées pérennes et les stratégies éco physiologiques qui en résultent (Norton <i>et al.</i> , 2016).....	20
Figure 5: Etapes de la construction de la librairie GBS (Myles, 2013).....	29
Figure 6: Types d'adaptateurs utilisés dans le génotypage par séquençage (Trushar and Rajneesh, 2016).....	30
Figure 7: Principe du logiciel UNEAK (Fei Lu <i>et al.</i> , 2013).	33

Chapitre II

Figure 8 : Distribution géographique des populations de dactyle et de fétuques élevée à travers l'Algérie.	40
Figure 9 : Pluviométries et températures mensuelles enregistrées au cours des deux campagnes d'étude.....	41
Figure 10 : Dispositif expérimental de cette étude	43
Figure 11: photos réelles de l'expérimentation	43
Figure 12 : Rendements moyens frais et secs (t/ha) accumulés au cours de la première année d'expérimentation ($P_{\text{rdt frais « génotypes »}} = 0,03^*$; $P_{\text{rdt sec NS}}$).....	48
Figure 13: Rendements moyens frais et secs (t/ha) accumulés au cours des différentes saisons de la deuxième année d'expérimentation ($P_{\text{rdt frais « saisons »}} = 1,091e-10^{***}$; $P_{\text{rdt sec « génotypes »}} = 0,0123^*$; $P_{\text{rdt sec « saisons »}} = 2,567e-12^{**}$).....	50
Figure 14 : Classement des génotypes en fonction de la variation des rendements de matière sèche des différentes coupes réalisées durant tout le cycle.....	52
Figure 15: Classement des génotypes en fonction de la variation du rendement de matière sèche de la coupe fin-printanière.....	53
Figure 16 : Rendements frais et sec (t/ha) moyen produits au cours de tous les cycles.....	54
Figure 17 : Variation de la hauteur de la végétation des différents génotypes au moment de la coupe (cm) au cours de la première année d'expérimentation ($P_{\text{génotypes NS}}$).	56
Figure 18 : Variation de la hauteur de la végétation des génotypes (cm) à différentes saisons au cours de la deuxième année d'expérimentation ($P_{\text{génotypes}} = 1,174e-06^{**}$; $P_{\text{saisons}} < 2,2e-16^{**}$; $P_{\text{génotypes} \times \text{saisons}} = 0,0281^*$).....	56
Figure 19 : Dates d'épiaison et écarts en jours (de la moyenne générale) des différents génotypes au cours de la première et la deuxième année d'expérimentation ($P_{\text{génotypes (1ère et 2ème années)}} NS$).	58
Figure 20 : Taux de recouvrement (%) des différents génotypes au cours de l'année d'installation ($P_{\text{génotypes}} = 0,01^*$).....	60
Figure 21 : Variation du taux de recouvrement (%) des génotypes au cours des différentes saisons des deux années d'expérimentation ($P_{\text{génotypes}} = 0,0009^{***}$; $P_{\text{saisons}} = 0,02^*$).	61
Figure 22 : Evolution du taux de recouvrement des génotypes à comportement extrême : la population de dactyle El adaiak (Edk) et le cultivar de féтуque élevée Centurion (Cen).	62
Figure 23 : L'EUE (kg ha ⁻¹ mm ⁻¹) pour produire de la matière sèche des différents génotypes au cours des différentes saisons de la 2ème année d'étude ($P_{\text{saisons}} = < 2e-16^{***}$).	64
Figure 24 : Classification des génotypes de dactyle et de féтуque élevée selon la méthode UPGMA. .	68

Figure 25 : Analyse en composantes principales (ACP) des variables et des génotypes de dactyle et de fétuques élevées.....69

Chapitre III

Figure 26 : Photos où l'expérimentation s'est déroulée	75
Figure 27 : Dispositif expérimental opté pour l'expérimentation.....	77
Figure 28 : Différentes opérations réalisées au cours de l'étude expérimentale.....	79
Figure 29 : photo personnelle prise après application du stress hydrique	81
Figure 30 : La surface foliaire des différents génotypes au cours de la 1ère année d'expérimentation ($P_{\text{génotypes}}=0,03 *$; $P_{RH}=0,002 **$; $P_{\text{Mesures}}=7,78e-13 ***$).....	85
Figure 31 : La surface foliaire des différents génotypes au cours de la 2ème année d'expérimentation ($P_{\text{génotypes}}=1,33e-12 ***$; $P_{RH}=0,001 **$; $P_{\text{Mesures}}=NS$).....	86
Figure 32 : Pourcentage de régression de la surface foliaire au cours de la 1ère années.....	87
Figure 33: Comparaison du pourcentage de régression de la surface foliaire pour tous les génotypes entre la première (A1) et la deuxième (A2) année d'étude.....	87
Figure 34 : La biomasse aérienne sèche produite (g) des différents génotypes au cours de la 1ere année d'expérimentation ($P_{\text{génotypes}}=0,02 *$; $P_{RH}=3,596e-08 ***$).....	90
Figure 35 : La biomasse aérienne sèche produite (g) des différents génotypes au cours de la 2ème année d'expérimentation ($P_{\text{génotypes}}=0,001 **$; $P_{RH}=7,035e-07 ***$).....	90
Figure 36 : Pourcentage de régression de la biomasse aérienne sèche pour tous les génotypes à la première année d'étude.....	91
Figure 37: Comparaison du pourcentage de régression de la biomasse aérienne sèche pour tous les génotypes entre la première (A1) et la deuxième (A2) année d'étude.....	91
Figure 38 : La biomasse racinaire sèche produite (g) des différents génotypes au cours de la 2ème année d'expérimentation ($P_{\text{génotypes}}=0,0008 ***$; $P_{RH}=7,52e-16 ***$).....	92
Figure 39 : Pourcentage de régression de la biomasse racinaire sèche pour tous les génotypes en deuxième année d'étude.....	93
Figure 40 : Rapport entre biomasses racinaires et aériennes sèches des différents génotypes sous conditions de stress hydrique au cours de la 2ème année d'étude ($P_{\text{génotypes}}=0,003 **$).....	93
Figure 41 : La teneur relative en eau (%) des génotypes au cours de la 1ère année d'étude ($P_{\text{génotypes}}=0,0001 ***$; $P_{RH} < 2,2e-16 ***$; $P_{\text{cycles}} 2,240e-15 ***$; $P_{G \times RH \times C} = 0,0001 ***$).....	97
Figure 42 : La teneur relative en eau (%) des génotypes au cours de la 2ème année d'étude ($P_{\text{génotypes}}=9,431e-05 ***$; $P_{RH} < 2,2e-16 ***$; $P_{\text{cycles}} NS$; $P_{G \times RH \times C} = 0,009 **$).....	98
Figure 43 : Pourcentage de régression moyen de la teneur relative en eau des génotypes en première d'étude.....	99
Figure 44 : Comparaison du pourcentage de régression de la teneur relative en eau pour tous les génotypes entre la première (A1) et la deuxième (A2) année d'étude.....	99
Figure 45 Stabilité membranaire des génotypes en première année d'étude ($P_{\text{génotypes}}=0,03 *$; $P_{RH} < 2e-16 ***$; $P_{\text{cycles}} = 0,0009 ***$; $P_{G \times RH \times C} = 0,002 **$).....	102
Figure 46 : Stabilité membranaire des génotypes en deuxième année d'étude ($P_{\text{génotypes}}=0,008 **$; $P_{RH} < 2e-16 ***$; $P_{\text{cycles}} NS$; $P_{G \times RH \times C} = 0,001 **$).....	103
Figure 47 : Pourcentage de régression de la stabilité membranaire des génotypes au cours de la première d'étude.....	104
Figure 48 : Comparaison du pourcentage de régression de la teneur relative en eau pour tous les génotypes entre la première (A1) et la deuxième (A2) année d'étude.....	104

Figure 49 : Variation des teneurs moyennes en chlorophylle (a) ($\mu\text{g} / 100\text{mg}$ de MVF) des génotypes sous différents régimes hydriques au 2 ^{ème} cycle de la 1 ^{ère} année d'étude.....	106
Figure 50: Variation des teneurs moyennes en chlorophylle (a) ($\mu\text{g} / 100\text{mg}$ de MVF) des génotypes sous différents régimes hydrique au cours de la 2 ^{ème} année d'étude ($P_{cycles} = 0,03 *$).....	107
Figure 51 : Variation des teneurs moyennes en chlorophylle (b) ($\mu\text{g} / 100\text{mg}$ de MVF) des génotypes sous différents régimes hydriques au 2 ^{ème} cycle de la 1 ^{ère} année d'étude.....	109
Figure 52 : Variation des teneurs moyennes en chlorophylle (b) ($\mu\text{g} / 100\text{mg}$ de MVF) des génotypes sous différents régimes hydriques au cours de la 2 ^{ème} année d'étude ($P_{RH} = 0,00129 **$; $P_{cycles}=0,002 **$; $P_{G \times RH \times C}=0,04 *$).....	110
Figure 53 : Variation des teneurs moyennes en prolines accumulées ($\mu\text{g} / 100\text{mg}$ de MVF) par les génotypes sous différents régimes hydriques au cours de la 1 ^{ère} année d'étude ($P_{génotypes}=0,0001 ***$; $P_{RH} < 2e-16 ***$; $P_{cycles} NS$; $P_{G \times RH \times C} NS$).....	113
Figure 54 : Variation des teneurs moyennes de prolines accumulées ($\mu\text{g} / 100\text{mg}$ de MVF) par les génotypes sous différents régimes hydriques au cours de la 2 ^{ème} année d'étude ($P_{génotypes}= NS$; $P_{RH} = 3,98e-06 ***$; $P_{cycles} < 2e-16 ***$; $P_{G \times RH \times C} NS$).....	114
Figure 55 : Pourcentage d'accroissement des teneurs en proline pour tous les génotypes en première année d'étude.....	115
Figure 56 : Comparaison du pourcentage d'accroissement des teneurs en proline pour tous les génotypes entre la première (A1) et la deuxième (A2) année d'étude.....	115
Figure 57 : Variation des teneurs moyennes en sucres solubles totaux accumulées ($\mu\text{g} / 100\text{mg}$ de MVF) par les génotypes sous différents régimes hydriques au cours de la 1 ^{ère} année d'étude ($P_{génotypes}=NS$; $P_{RH} = NS$; $P_{cycles} = 0,004 **$ $P_{G \times RH \times C} NS$).....	118
Figure 58 : Variation des teneurs moyennes en sucres solubles totaux accumulées ($\mu\text{g} / 100\text{mg}$ de MVF) par les génotypes sous différents régimes hydriques au cours de la 2 ^{ème} année d'étude ($P_{génotypes}=0,022 *$; $P_{RH} = 0,023 *$; $P_{cycles}= 0,003 **$; $P_{G \times RH \times C} NS$).....	119
Figure 59 : Pourcentage d'accroissement des teneurs en sucres solubles totaux (SST) pour tous les génotypes en première année d'étude.....	120
Figure 60 : Comparaison du pourcentage d'accroissement des teneurs en sucres solubles totaux (SST) pour tous les génotypes entre la première (A1) et la deuxième (A2) année d'étude.....	120
Figure 61 : Dendrogramme des génotypes de dactyle et de fétuque élevée selon la méthode UPGMA.....	123
Figure 62 : Analyse en composantes principales (ACP) des variables et des génotypes de dactyle et de fétuque élevée.....	124

Chapitre IV

Figure 63 : Préparation des échantillons pour l'analyse de la cytométrie en flux.....	131
Figure 64 Exemples d'histogrammes de cytométrie en flux de l'intensité de fluorescence relative de l'iodure de Propidium (PI) obtenus à partir du cultivar Conrad (A), la population « Edk » (B) et le cultivar Ludac (C) pour le dactyle ainsi que des exemples de la de fétuque élevée concernant la population FE5718 (D), le cultivar Centurion (E) et le cultivar Lutine (F).....	137
Figure 65 : Dendrogramme des génotypes de dactyle selon la méthode UPGMA.....	143
Figure 66 : Analyse en Composantes Principales (ACP) des génotypes de dactyle basée sur les données GBS.....	144
Figure 67 : Dendrogramme des génotypes de fétuque élevée selon la méthode UPGMA.....	145
Figure 68 : Analyse en Composantes Principale (ACP) des génotypes de fétuque élevée basée sur les données GBS.....	146

Liste des tableaux

Chapitre II

Tableau 1: Principales caractéristiques physico-chimiques du sol	36
Tableau 2: Liste des populations et des cultivars de dactyle et de fétuque élevée étudiés	39
Tableau 3 : Durée du cycle (D, jours), moyennes des températures moyennes (T moy, °C), maximales (Tmax, °C) et minimales (Tm, °C) saisonnières et cumul pluviométrique saisonnier (P, mm) enregistré durant la période d'expérimentation.	65

Chapitre IV

Tableau 4 : Analyse de la variance moléculaire des géotypes de dactyle basée sur les marqueurs SNP	139
Tableau 5 : Analyse de la variance moléculaire des géotypes de fétuque élevée basée sur les marqueurs SNP	140

Liste des abréviations

AMOVA : Analyse de la variance moléculaire

EUE: Efficiences d'utilisation de l'eau

GBS: Genotyping by Sequencing

NGS: Next – Generation Sequencing

PCR : Polymerase Chain Reaction

PstI, MspI : Enzymes de Restriction

SM : stabilité membranaire

SNP: Single Nucleotide polymorphism

SST : Sucres solubles totaux

TRE : Teneur Relative en Eau

UF: Unités Fourragères

UNEAK: Universal Network Enabled Analysis Kit

UPGMA: Unweighted Pair Group Method using arithmetic average

Introduction générale

Les productions fourragères sont largement cultivées dans le monde et contribuent significativement aux économies de nombreux pays. Selon la FAO (2011), les fourrages et leurs produits ont participé dans le commerce international par des valeurs de l'ordre de 619 millions de tonnes soit 365 millions de dollars.

Les économies de certains pays, tels que la Nouvelle-Zélande, sont étroitement dépendante de l'industrie laitière et de l'élevage; en effet, les exportations de ce pays en viande et en produits laitiers ont été estimées de 17 milliards de dollars en 2012; alors qu'aux États-Unis, les recettes totales de l'exportation de semences fourragères sont de l'ordre de 34 millions de dollars, 12,2 milliards de dollars provient essentiellement de la vente de foin et 66 milliards de dollars sont obtenus indirectement par la vente de la viande bovine et de produits laitiers (Rauf *et al.*, 2016).

En Algérie, le potentiel fourrager existant est structuré autour de quatre ensembles d'inégale importance, constitués par les prairies naturelles, les parcours steppiques et forestiers, les jachères et les fourrages cultivés (Adem and Ferrah, 2002). En effet, les superficies réservées aux cultures fourragères consommées en sec sont de l'ordre de 797 377 ha (MADR, 2015), alors que celles réservées aux fourrages cultivés et consommés en vert sont moins importantes, elle sont estimées à 146 726 ha (MADR, 2015). Ces superficies ne représentent que 2,38 % par rapport à la superficie utilisée par l'agriculture et demeurent donc insuffisantes, compte tenu des besoins du cheptel en constante évolution (2 149 549 bovins, 28 111 773 ovins, 5 013 950 caprins, 362 265 camelins et 122 106 équins) (MADR, 2015).

La faiblesse de production fait que l'Algérie enregistre des déficits fourragers énormes qui sont estimés à 7,3 Milliard d'UF en 2012 (Merdjane and Hacene, 2015) et le pays tend vers les importations pour combler ce manque.

A titre d'exemple, en 2018 l'Algérie a enregistré une évolution dans les importations de lait et de produits laitiers de 2,7% par rapport à l'année 2013 qui était de 2%, le pays a importé 443676 millions de tonnes de lait et de crème de lait avec des factures qui coûtent

142574,5 millions de DA et malheureusement ces importations ne cessent d'augmenter (ONS, 2019).

Des contraintes majeures sont à l'origine de ce déficit à savoir l'absence totale de la production de semences fourragères, la méconnaissance des techniques culturales des espèces fourragères à petites graines (bersim, luzerne, etc.), l'utilisation d'un matériel végétal de faible performance et les ressources hydriques pour l'irrigation qui sont limitées (Nouad, 2001).

Mis à part ces contraintes rencontrées, les données météorologiques concernant la méditerranée indiquent que le réchauffement climatique est plus accentué dans cette région. Ce changement a des implications importantes pour la productivité des prairies méditerranéennes où la production fourragère est au premier rang des productions agricoles touchées par la sécheresse, avec des baisses de rendement qui peuvent dépasser 50% dans certain cas (Lozano-Parra *et al.*, 2014).

Compte tenu de la situation actuelle les travaux de recherche pour les espèces fourragères doivent impérativement cibler l'amélioration de la productivité et de la pérennité des systèmes fourragers dans tous les programmes de sélection.

En Algérie, les alternatives sont nombreuses, dont entre autre la mise en valeur du potentiel productif des espèces fourragères natives qui constituent la flore locale et qui peuvent être conduites en pluvial. Les graminées fourragères telles que les fétuques et les dactyles offrent de grandes possibilités de développement comme cultures fourragères régulières et productives (Mefti, 2012).

Les espèces pérennes jouent un rôle essentiel dans l'amélioration des paysages, la réduction de l'érosion et la conservation des sols (Casler and Vogel, 1999; Annicchiarico *et al.*, 2011), présentent la caractéristique d'être auto-régénératrices, elles sont persistantes, occupant le sol plus de 6 voire 10 ans sous des conditions de mise en place favorables (Norton *et al.*, 2006). De par leur résistance aux différentes conditions du milieu, elles conviennent aisément aux zones à pluviométrie moyenne et sont particulièrement adaptées pour mettre en valeur les sols marginaux pour d'autres cultures (Khedim *et al.*, 2008).

L'objectif de cette recherche est l'étude des performances fourragères et de la persistance des populations algériennes de dactyle (*Dactylis glomerata* L.) et de fétuque (*Festuca arundinacea* scherb.) ainsi que de quelques cultivars de diverses origines, évalués sur le site de la station expérimental de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique durant deux campagnes agricoles. Le travail s'articule autour de quatre chapitres principaux :

- Le chapitre I est une synthèse bibliographique sur la situation des cultures fourragères en Algérie, sur le comportement, la croissance saisonnière et la productivité des espèces d'intérêt étudiées ainsi que les critères de sélection pour ces espèces et les mécanismes adoptés pour la tolérance à la sécheresse.
- Le chapitre II est consacré à l'étude du comportement agronomique des populations et des cultivars de dactyle et de fétuques élevées, il décrit la variabilité qui existe entre les différents génotypes pour la production de biomasse aérienne, la croissance végétative au cours des saisons, la persistance et il aborde aussi un des éléments les plus importants dans la réussite des prairies artificielles à savoir l'efficacité d'utilisation de l'eau.
- Le chapitre III analyse le comportement des génotypes face à la contrainte hydrique et leur réponses morpho-physiologiques et biochimiques afin d'en sélectionner les génotypes qui s'adaptent le mieux aux conditions contraignantes du milieu.
- Le chapitre IV est consacré à une analyse moléculaire des génotypes étudiés, le point est mis précisément sur l'étude de diversité génétique par la méthode « génotypage par séquençage (GBS) » et sur la détermination de ploïdie.
- Une conclusion qui résume les principaux résultats obtenus et leurs apports à la sélection des populations algériennes qui méritent d'être introduites dans des programmes d'amélioration pour les graminées fourragères pérennes

Chapitre I

Revue bibliographique

1 Situation de la production fourragère en Algérie

L'Algérie, par la nature de son climat, la diversité de ses milieux et de ses terroirs, de son relief et de ses formations végétales, par les habitudes et les pratiques de sa population humaine est un pays à vocation pastorale et fourragère en premier (Abdelguerfi *et al.*, 2008).

La production fourragère en Algérie est de type extensif, puisqu'elle dépend surtout des milieux naturels en dégradation permanente et des fourrages grossiers, assurée majoritairement par la jachère, les chaumes de céréales et par les pacages et parcours. Ces ensembles se caractérisent par la faiblesse de leur productivité et constituent l'une des principales contraintes de développement de l'élevage en Algérie (Senoussi and Behir, 2010).

1.1 Les prairies naturelles

Les prairies naturelles existantes sont en voie de disparition, suggérant que cette façon de produire du fourrage ne fait pas partie du savoir-faire paysan de la nouvelle génération d'agriculteurs (Mefti, 2012). La régression de leur superficies s'est poursuivie depuis l'indépendance à nos jours (Abbas and Abdelguerfi, 2005) et actuellement elles ne représentent que 0,1% de la SAU avec une superficie de 25 468 ha (MADR, 2015). Les prairies naturelles apportent autour de 500 UF/ha et ne participent que par 1% seulement dans le rationnement du cheptel national (Benbarek and Chabaka, 2017).

Les prairies, de bas-fonds et des bords d'oued, ont été défrichées et utilisées par la céréaliculture, la viticulture et/ou l'arboriculture et les cultures maraîchères. Certaines ont même été loties pour la construction d'habitations (Abdelguerfi *et al.*, 2008) et le peu qui reste, de ces prairies est localisé essentiellement en zones humides et subhumides (Nedjraoui, 2003).

1.2 La jachère

Elle constitue l'un des principaux pâturages dans le Maghreb ; par contre, en Algérie elle occupe une surface de 3 093 664 ha soit 7,1% de la SAU (MADR, 2015). L'apport des jachères a été estimé à 1,4 milliards d'UF, soit 9,3 % de l'offre fourragère totale (Abbas and Abdelguerfi, 2005), ceci montre leur importance en tant que ressource fourragère et alimentaire malgré leur très bas niveau de production.

En prenant le cas du Sersou à titre d'exemple, les faibles productions fourragères au niveau de la jachère pâturée entraînent une perte de poids vif chez les brebis de l'ordre de 10 à 15 kg entre octobre et mai. Malheureusement, la "révolution fourragère" consistant à remplacer la jachère par des cultures fourragères, particulièrement des légumineuses, qu'a très tôt connue l'Europe ne semble pas s'être produite au Maghreb en général et en Algérie en particulier (Abdelguerfi *et al.*, 2008).

1.3 Les parcours steppiques et forestiers

Actuellement les parcours occupent une superficie de 32 968 513 ha soit 76 % de la SAU (MADR, 2015), mais malgré cela, ils fournissent des ressources fourragères qui sont tendanciellement en voie de régression. Cela s'explique par les labours anarchiques, l'accès à la propriété foncière et la confusion (volontaire ou non) entre mise en valeur et mise en culture et la surcharge en animaux trop fréquente et pendant des périodes de temps trop longues (Abdelguerfi *et al.*, 2008). Ces parcours sont trop dégradé prenant souvent un caractère minier (Adem and Ferrah, 2002).

En ce qui concerne les parcours des zones montagneuses et forestières, localisées au nord du pays, elles sont relativement plus humides et de moindre et sont caractérisées par une productivité très variable d'une région à l'autre en fonction des conditions du milieu (pluviosité, exposition, sol...), de la charge animale et de la composition botanique des formations végétales (Abdelguerfi *et al.*, 2008).

1.4 Les fourrages cultivés

Les superficies consacrées aux cultures fourragères sont relativement réduites, elles sont estimées à 797 377 ha (MADR, 2015), consommés essentiellement en sec.

Les graminées fourragères comme l'orge, l'avoine et parfois le triticales constituent des ressources très importantes utilisées en vert (pâturage et/ou fauche) ou en conserve (foin rarement ensilage). Ces graminées et leurs associations avec les légumineuses (vesce, pois, gesse) sont les cultures fourragères dominantes. Il faut souligner que l'orge sous toutes ses formes (pâturage en vert – déprimage –, fauchée, en grain) constitue l'un des éléments clés des systèmes fourragers de l'Afrique du Nord (Lelièvre and Volaire, 1993; Abdelguerfi and Laouar, 1999).

Les résidus des céréales eux même sont aussi consommés à grande échelle, après la moisson, la paille est ramassée et mise en bottes et conservée pour être distribuée au cours de l'automne et en hiver. A cause de son faible coefficient de digestibilité, sa faible concentration énergétique et azotée, la paille est enrichit avec de l'urée ou de l'ammoniac afin de permettre d'améliorer sensiblement sa qualité nutritive et ainsi de la valoriser (Nefzaoui, 1994).

Depuis quelques années la culture du maïs fourrager s'est principalement faite au sud du pays dans les wilayas d'El-Menia, d'Adrar et de Ghardaïa. La superficie des terres consacrées à la culture du maïs ensilage a fortement évoluée ces dernières années passant de 1500 ha en 2016 à plus de 3100 ha. Les récoltes de ces trois wilayas sont fauchées, hachées et tassées mécaniquement avant d'être enrubannées sous forme de grosses bottes rondes qui seront destinées à l'alimentation du bétail, notamment les vaches laitières (Timac agro, 2020).

La surface réservée aux fourrages cultivés consommés en vert est moins importante que celle consacrée à la consommation en sec, elle est estimée à 146 726 ha (MADR, 2015). Le bersim constitue souvent la seule ressource fourragère pour le bovin laitier en hiver et au printemps, il est relayé en été par la luzerne pérenne et le sorgho sudan grass (Abdelguerfi *et al.*, 2008). Le sorgho est la culture estivale la plus pratiquée compte tenu de sa résistance à la sécheresse (Abdelguerfi and Laouar, 1999). La luzerne pérenne joue aussi un rôle non négligeable particulièrement dans les oasis, malheureusement aucune variété n'est cultivée à grande échelle, quoiqu' il existe près d'une vingtaine d'espèces du genre *Medicago* (INRA, 2006). Concernant les fourrages secondaires telles que le pois fourrager, le pois protéagineux et la gesse, leur culture est très limitée, la fèverole très utilisée pour l'alimentation humaine et animale dans les régions montagneuses particulièrement en Kabylie a fortement régressé depuis la mise au point d'aliments concentrés (Mefti, 2012). Les variétés expérimentées de lupin et de Sulla sont restées au stade expérimental (Annicchiarico *et al.*, 2011), alors que les espèces telles que la féтуque, le dactyle et le ray-grass sont inexistantes (Abdelguerfi, 2004).

2 Le bilan fourrager

La faible sole réservée aux cultures fourragères et la diminution des valeurs alimentaires des ressources fait que l'Algérie enregistre un déficit fourrager énorme, les rendements sont

très faibles et restent loin de satisfaire les besoins alimentaires du cheptel en constante évolution.

Le bilan fourrager a enregistré un déficit depuis longtemps, il était de 3,45 Milliard d'UF en 1986 (Laib, 1988), de 4 Milliard d'UF en 1998 (Houmani, 1999), de 3,3 Milliards d'UF entre 2004 et 2007 (MADR, 2007), de 6,66 et 3,4 Milliard d'UF respectivement pour 2010 et 2011 (MADR, 2012) et enfin de 7,3 Milliard d'UF en 2012 (Merdjane and hacene, 2015). En moyenne, le déficit fourrager serait de 4 Milliard d'UF par an avec des disparités régionales très importantes (Benbarek and Chabaka, 2017). Pour combler ce manque, l'Algérie se recoure annuellement à l'importation de la poudre de lait avec des factures très lourdes (163 233,7 millions de DA) (ONS, 2019), cette importation malheureusement connaît chaque année une hausse, elle a été de 2,7% en 2018 comparativement aux années précédentes (ONS, 2019).

Des contraintes multiples sont à l'origine de ce déficit à savoir :

- La faible disponibilité des semences : la production des semences pastorales est inexistante ; en effet, l'Algérie est tributaire des importations à 75 % de ses approvisionnements (Mefti, 2012) avec des factures qui coûtent 113 622,7 Millions de DA (ONS, 2019).
- Les exigences du matériel végétal utilisé sont souvent mal connues : pour les différentes espèces fourragères cultivées, le choix reste très limité et souvent c'est la même variété qui est utilisée à travers tout le pays quel que soit le milieu ou le terroir.
- La préparation du sol et du lit de semences est souvent sommaire, la date et la dose de semis ne sont jamais respectées, la fumure est généralement inexistante, l'irrigation est très rare et souvent mal pratiquée.
- L'exploitation est souvent mal menée : Le stade et/ou la période de récolte ne sont souvent pas respectés et les techniques utilisées sont parfois inadéquates.
- Les méthodes de conservation restent très limitées : actuellement, très rares sont les exploitations qui pratiquent l'ensilage, l'unique méthode de conservation est le fanage au sol ; technique qui présente certains inconvénients vue qu'elle entraîne une diminution très variable de la digestibilité de la matière organique des fourrages (Demarquilly *et al.*, 1969), ajouter à ça la qualité du foin obtenu est généralement

assez mauvaise à cause de la mauvaise organisation du chantier de fanage (Abdelguerfi and Laouar, 1999; Si Ziani and Boulberhane, 2001).

Cette observation rend impératif la mise en place d'un programme complet pour la régénération des prairies naturelles, pour assurer une alimentation régulière et rationnelle du cheptel ; toutefois, des solutions existent et peuvent être prises en charge par la recherche agronomique (Issolah, 2008).

L'Algérie présente de nombreuses possibilités de développement des cultures fourragères et l'amélioration des productions pastorales, et l'une des voies possibles consiste à valoriser les espèces qui s'adaptent mieux dans différents milieux de production.

3 Présentation des espèces

3.1 Le Dactyle

3.1.1 Présentation de *Dactylis glomerata* L.

Les dactyles sont des graminées vivaces, le genre mono spécifique *Dactylis* L. est membre de la tribu Poeae de la sous-famille des Pooideae avec $x = 7$ comme nombre chromosomique basique caractéristique de cette tribu (Watson *et al.*, 1985, 1986). Le genre *Dactylis* L. se compose d'une seule espèce *Dactylis glomerata* L. et au moins 18 sous-espèces avec des niveaux de ploïdie à $2n = 6x = 42$, $2n = 4x = 28$ et $2n = 2x = 14$ (Sanada *et al.*, 2010).

Dans l'ensemble de la région méditerranéenne, *Dactylis glomerata* est représenté par deux sous-espèces qui sont les plus utilisées en agriculture et dont les différences morphologiques et physiologiques ont été décrites par Borrill (1962) et Lumaret *et al.*, (1987). Il s'agit de la sous espèce *Dactylis glomerata* ssp.*glomerata* dite dactyle pelotonné, fréquente à l'état spontanée en Europe tempéré et continentale, caractérisée par des feuilles longues et larges et une dormance hivernale et la sous-espèce *Dactylis glomerata* ssp.*hispanica* inféodée au bassin méditerranéen, caractérisée par des feuilles courtes et étroites et une dormance estivale (Mousset, 1992, 2000).

En ce qui concerne les populations algériennes, Mousset (1993) décrit deux groupes de population de dactyle :

- Populations apparentent à *D. glomerata* ssp. *mairi*. Ces populations sont à nombreuses talles et au feuillage vert clair, à panicules courtes, populations moins sensibles aux maladies et ont une meilleure repousse à la sortie de l'hiver ainsi qu'à l'automne, situées dans les zones montagneuses y compris les valles de l'intérieur du pays, dans les régions les plus arrosées (1100 à 2000 mm) tels que l'atlas de Blida et les gorges de Kerrata.
- Populations apparentent à *D. glomerata* ssp. *castellata*. Ces populations sont à feuillage vert foncé, à grosses panicules provenant de régions plus proches des côtes, de la grande et de la petite Kabylie et de Annaba, régions plus perturbées par la civilisation et mais aussi mois arrosés.

3.1.2 Origine et répartitions géographiques

Selon Villax (1963), *Dactylis glomerata* est une espèce indigène en Europe et en Afrique du nord, cultivée dans toutes les régions tempérées de la terre, surtout en France, en Allemagne, aux Pays-Bas, en Amérique du nord. Espèce très répandue à l'état naturel dans les régions à climat tempéré et continental d'Eurasie, de même que les zones de transition vers le climat méditerranéen (Voltaire *et al.*, 1990; Mousset, 1992). Selon Domin (1943), l'espèce est «presque cosmopolite», peut coloniser en grosses touffes une gamme d'habitat très étendue, espèce très compétitive en milieux ouverts, tels que les bords de routes et les talus. Mousset (1993) indique que la répartition des espèces diploïdes se localisent entre 350 et 800 m d'altitude, par contre les tétraploïdes colonisent divers habitats.

3.1.3 Caractéristiques biologiques

Le dactyle est une plante de grande taille, atteint souvent plus d'un mètre à la floraison, les feuilles sont le plus souvent larges, vert glauque de couleur mate et très souples, les tiges sont très grosses à la base et se lignifient rapidement. L'inflorescence est une panicule très caractéristique à épillets agglomérés (Mousset, 1995). Selon Lapeyronie (1982), le dactyle est pourvu d'un système racinaire qui vit deux ans et les racines peuvent descendre très profondément. Le dactyle forme tout au long de l'année de nouvelles racines et possède donc toujours des racines fonctionnelles ; considérée comme espèce très résistance à la sécheresse, pouvant donner en situation sèche une production d'été et capable de supporter l'ombrage.

Par contre, l'espèce est très sensible au froid en début de développement, c'est pourquoi en zones méditerranéennes froides les semis d'automne doivent être précoces, elle craint les gelées tardives qui risquent de compromettre une production printanière précoce (Figure 1).

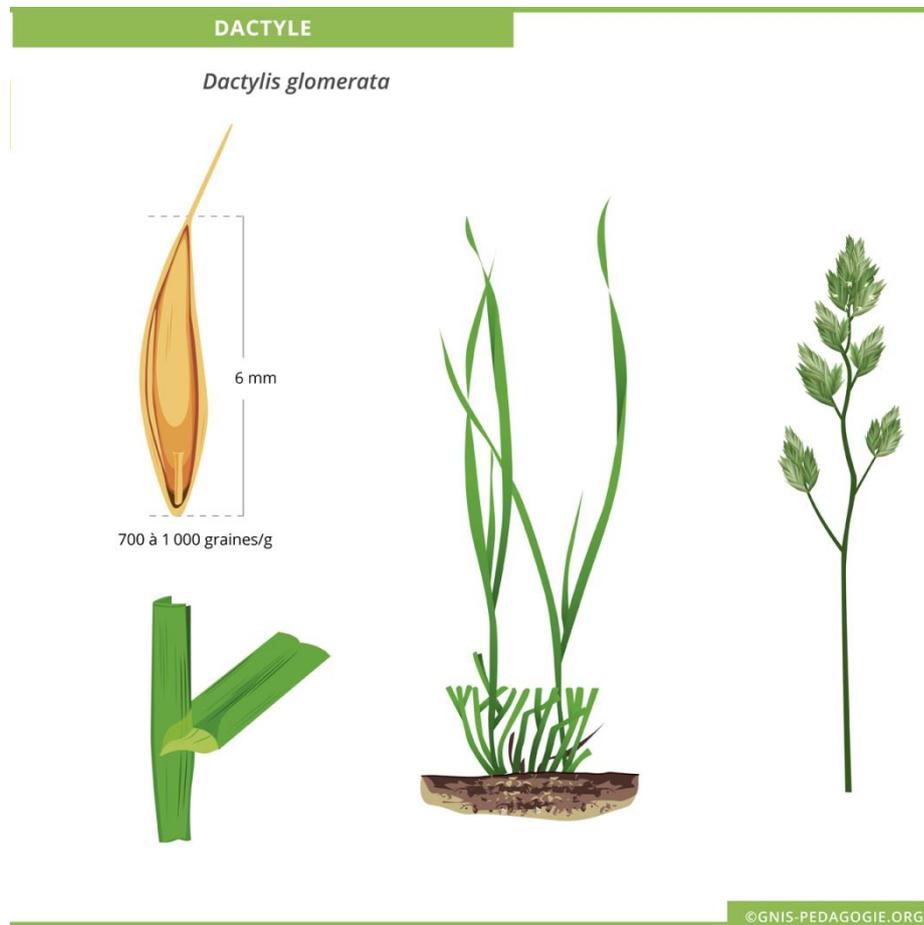


Figure 1: Illustration botanique de l'espèce *Dactylis glomerata* L.

(Source : <https://www.gnis-pedagogie.org/?s=dactyle>)

Selon Gillet (1980), les semences du dactyle sont relativement petites ; 1000 graines pèsent entre 0,9 et 1,4 g, elles sont vêtues mais les enveloppes ne sont pas adhérentes au caryopse. Cette absence d'adhérence fait que certaines graines très manipulées deviennent nues et par conséquent leur faculté germinative diminue sans que l'énergie germinative diminue.

La production de semences de dactyle nécessite obligatoirement l'isolement pour protéger les plants de la contamination par le pollen des autres cultivars et la distance

d'isolement dans le champ de multiplication ne doit pas être moins de 200 m (Sanada *et al.*, 2010).

3.1.4 Intérêt agronomique de *Dactylis glomerata* L.

Le dactyle est une graminée de grand intérêt en raison de la variété des types adaptés à des conditions pédoclimatiques très diverses. Depuis les climats continentaux à hiver plus ou moins rigoureux où les dactyles ont un repos hivernal et une croissance estivale par un maintien de production et d'offre fourragère pâturable en été jusqu'au climat méditerranéen où la sécheresse estivale a façonné des types à dormances estivale et à croissance hivernale ; le principal critère de résistance est la pérennité (taux de survie) et la vitesse de reprise après le retour des pluies d'automne pour un pâturage précoce. Sa résistance à la sécheresse et son aptitude à bien utiliser l'eau en été sont liées à son système racinaire toujours fonctionnel et très dense dans les 20 à 30 premiers cm du sol. Certains types portugais ont même une croissance continue pendant toute l'année (Mousset, 1995). En régions tempérées et continentales, le dactyle est l'une des quatre graminées pérennes les plus utilisées avec le ray-grass anglais, la féтуque élevée et la féтуque de prés.

3.1 .5 Croissance, production et valeur nutritive de *Dactylis glomerata* L.

Le dactyle est une plante à haut potentiel de production, dans des conditions favorables (forte fumure azotée, irrigation, exploitations fréquentes), une prairie de dactyle bien conduite aura une productivité pendant 5 à 8 ans et peut fournir toutes les 5 à 6 semaines de 1,5 à 3 t MS/ha d'une herbe feuillue, de bonne qualité et bien consommée, et ce, jusqu'à début novembre, soit une production annuelle de 12 à 15 t MS/ha et parfois même jusqu'à 18 t MS/ha (Mousset, 2000).

La croissance de dactyle est longue et bien étalée au cours de la saison de végétation, avec une capacité de croissance jusqu'à des températures élevées, puisqu'il n'atteint son optimum qu'entre 25 et 30°C (Mitchell and Lucanus, 1962).

Le dactyle produit beaucoup au printemps, n'interrompt pas sa croissance en été (pour les variétés non dormantes) et pousse encore à l'arrière-saison. En automne, le dactyle répond mieux au retour des pluies, puisqu'il se met en repos avant l'hiver (Gillet, 1980). Il convient

également au régime mixte fauche –pâturage à condition cependant, qu’il soit pâturé à un stade jeune, surtout au printemps car il perd sa valeur nutritive plus rapidement que les autres graminées fourragères, s’il n’est pas pâturé (Bland and Dent, 1964) d’où l’intérêt de revenir au maximum toutes les 3 semaines (Gnis, 2014), de plus sa montée en épis, en effet est très rapide et ses tiges durcissent très fort à l’épiaison ce qui rend la plante peu appétente et peu digeste pour les animaux qui la consomment d’où l’intérêt de l’associer avec une luzerne qui prend le relais en été et donc ça permet d’obtenir des rendements plus réguliers, un fourrage plus appétant de valeur alimentaire plus stable et moins perturbé par la chute rapide de la qualité du dactyle (Davies, 1978) .

Concernant sa qualité fourragère, Mousset (2000) le signale comme la graminée qui peut produire le plus de protéines par hectare et par an (20 à 25 % de plus qu’un ray gras anglais ou hybride), de plus la digestibilité des limbes en début de printemps dépasse les 810 g/kg , cette valeur est supérieure à celle observée chez la fétuque d’au moins 100 g/kg en conditions azotée non limitantes (Duru *et al.*, 2008).

Entre autre, le dactyle présente certaines limites à savoir son installation lente d’où l’intérêt de bien soigner la préparation du sol et d’éviter de semer trop tard en automne, l’espèce ayant besoin d’azote pour exprimer son potentiel, c’est la raison pour laquelle il faut miser sur les associations, la plante est sensible aux excès d’eau d’où l’importance d’éviter les sols hydro morphes (Gnis, 2014).

3.2 La Fétuque élevée

3.2.1 Présentation générale du genre *Festuca*.

Le genre *Festuca* L. est l’un des plus larges de la famille des graminées fourragères, il est regroupé au sein de la famille des Poaceae avec le genre *Dactylis*, *Lolium* et *Poa*, dans la tribu des Fustaceae (Ghesquière and Jadas-Hecart, 2015). C’est un genre très diversifié, dont ses membres sont adaptés à des régions éco géographiques très variées. Il comprend 450 espèces (Clayton and Renvoize, 1986), qui sont en très grande majorité pérennes, allogames et polyploïdes avec un nombre chromosomique ($x=7$) allant de diploïdes ($2n=2x=14$) jusqu’au dodécaploïde ($2n=12x=84$) (Šmarda and Stančík, 2006).

Sur le plan agronomique, Lapeyronie (1982) classe le genre *Festuca* en deux groupes : les grandes fétuques (*festuca elatior*) regroupant deux sous- espèces, la fétuque élevée ou fétuque roseau (*F elatior* ssp *aundinaceae* Schreb) et la fétuque de prés (*F.elatior* ssp *pratensis* Hack) ainsi que les petites fétuques qui comprennent la fétuque rouge (*F. ruba*), la fétuque ovine (*F. ovina*) et la fétuque heterophylle (*F. heterophylla*), mais la classification qui a une large utilisation agronomique est celle de Hackel (1882) qui a divisé le genre *Festuca* en six sections et cela est basé sur des caractères végétatifs et floraux, il s'agit d'*Ovinae*, *Bovinae*, *Sub-bulbosae*, *Variae*, *Scariosae* et *Montanae*. Le groupe *Bovinae* comprend les fétuques à grandes feuilles et à limbe plan, elles sont fourragères alors que le groupe *Ovinae* renferme les fétuques à petites feuilles et limbe plié, utilisées comme gazon.

3.2.2 Présentation de *Festuca arundinacea* Schreb.

La fétuque élevée (*Festuca arundinacea* Schreb.) est considérée parmi les espèces les plus importantes dans le genre *Festuca*, c'est une espèce pérenne, allogame à pollinisation anémophile avec $2n = 6x = 42$. Des résultats récents d'hybridation in situ confirment que la fétuque élevée dériverait de l'hybridation entre les formes ancestrales de *Festuca pratensis* subsp. *pratensis* ($2n=2x=14$) et *Festuca arundinacea* var. *glaucescens* ($2n=4x=28$) (Ghesquière and Jadas-Hecart, 1995; Humphreys *et al.*, 1995; Sleper and Buckner, 1995) d'où sa formule génomique PPG1G1G2G2 (Chandrasekharan and Thomas, 1971), le génome P provient de la diploïde *F. pratensis* subsp. *pretensis* ($2n = 2x = 14$), et les génomes G1 et G2 proviennent de la tétraploïde ($2n = 4x = 28$) *F. arundinacea* var. *glaucescens* (Sleper, 1985), la taille de son génome est d'environ 6×10^3 Mbp (Seal, 1983).

Gillet (1980) indique que les botanistes considèrent l'ensemble des fétuques élevées comme une seule espèce, *Festuca arundinacea* Schreb, en réalité il s'agit génétiquement d'un groupe d'espèces assez proches, originaires de diverses régions du globe ; nous la retrouvons de plus en plus sous forme variée (i) de types d'origine méditerranéenne, (ii) des hybrides européens x méditerranéens, (iii) des hybrides fétuques élevées x ray-grass d'Italie (Mefti, 2012).

L'importance agricole de la fétuque élevée s'étend à la production d'hybrides inter génériques entre le genre *Festuca* et *Lolium*, en effet ces deux genres sont étroitement liés et peuvent s'hybrider dans la nature, par conséquent, ces graminées sont communément appelées par le complexe *Festuca-Lolium* (Hand *et al.*, 2012a).

3.2.3 Origine et répartitions géographiques de *Festuca arundinacea* Schreb.

La fétuque élevée est une graminée très répandue, endémique de l'Europe et de l'Afrique du Nord (Borrill *et al.*, 1971), qui se trouve un peu partout et qui a été introduite dans de nombreuses régions du globe, en particulier en Amérique du nord et en Nouvelle Zélande (Ghesquière and Jadas-Hecart, 1995), elle se produit également naturellement sur la côte Baltique dans tout le Caucase en Sibérie occidentale et s'étendant à la Chine (Jauhar, 1993).

Selon Abdelguerfi and Laouar (2002), la répartition pratiquement universelle de la fétuque élevée, dans toutes les zones cultivées tempérées, confirme la réalité de son potentiel d'adaptation et que les facteurs limitant sa distribution sont plus d'ordre climatique (température et précipitation). En effet, la majeure partie se trouve au-delà des isothermes 10°C du mois de janvier pour l'hémisphère nord et du mois de juillet pour l'hémisphère sud (Hartley, 1954). En Algérie, Maire (1955) la signale dans une aire assez étendue, dans les prairies humides, aux bords des eaux, allant du littoral jusqu'à environ 2500 m d'altitude ; commune partout sauf au Sahara.

3.2.4 Caractéristiques biologiques de *Festuca arundinacea* Schreb.

La fétuque élevée est une espèce pouvant atteindre 2 m de hauteur à la floraison. Elle possède un système racinaire puissant, pouvant descendre jusqu'à 1,5 m de profondeur. Elle présente une tendance naturelle au drageonnement. Les graines sont à section circulaire et sont persistantes. Les oreillettes sont embarrassantes et légèrement ciliées avec des ligules courtes. Les limbes sont généralement larges, d'un vert franc, souvent rude, à nervation très marquée et la face inférieure est luisante. Le nombre et la dimension des tiges sont très variables selon les variétés. L'inflorescence est en panicules et les épillets sont lancéolés (ACTA 1987) (Figure 2).

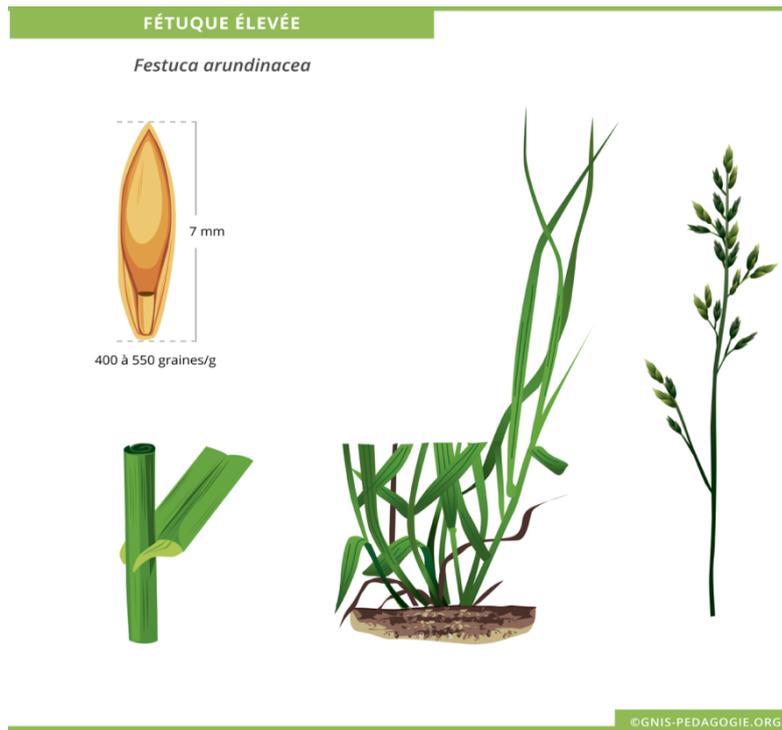


Figure 2 : présentation de l'espèce *Festuca arundinacea* Schreb
(Source : <https://www.gnis-pedagogie.org/?s=fetuque+elevee>)

3.2.5 Intérêt agronomique, Croissance et valeur nutritive de *Festuca arundinacea* Schreb.

La féтуque élevée peut être utilisée pour la fauche ou pour le pâturage à divers degrés d'intensification. Son potentiel de tallage et ses qualités de rusticité lui permettent en effet une large gamme d'utilisation comme par exemple en gazon vue qu'elle maintient un aspect vert et se comporte mieux que le ray-grass anglais même en conditions hydriques limitantes (Ghesquière and Jadas-Hecart, 1995; Leconte *et al.*, 2004).

Elle pousse plus régulièrement tout au long de l'année; son départ rapide en végétation lui assure une mise à l'herbe plus précoce, et donc en automne elle conserve une productivité plus supérieure que le ray-grass anglais, elle reste facilement verte à l'hiver, démarre tôt au printemps, pousse l'été en moyenne autant que le dactyle et est la dernière à s'arrêter en automne nettement après le dactyle, la repousse qui suit la coupe des tiges au printemps est peu retardée, la crise du tallage étant assez faible et son rythme de croissance est généralement supérieur à celui du dactyle. La féтуque élevée est l'espèce qui a le plus fort rendement annuel, elle peut fournir jusqu'à 13 à 18 t MS/ha en conditions favorables (Gillet, 1980).

Concernant sa valeur nutritive, la fétuque élevée s'exploite avant le stade épiaison pour le premier cycle, et 5 semaines après chaque coupe (repousse) pour les cycles suivants, à ce stade on obtient le maximum d'UF /ha, car si on dépasse cette date les feuilles durcissent et se dessèchent (Demarquilly *et al.*, 1969) et donc l'appétence sera moins importante, il en est de même pour la digestibilité.

Selon Verdaguer *et al.*, (2005), des facteurs sont à l'origine de ces limites à savoir des composés phénoliques (facteurs répulsifs) et alcaloïdes, la teneur en lignine des parois végétales ainsi que leurs liaisons avec l'hémicelluloses constituant des facteurs majeurs limitant la digestibilité de l'espèce. Ces limites peuvent être améliorées par plusieurs méthodes telles que :

- Des sélections individuelles sur la souplesse des feuilles et des sélections familiales sur l'appétence ; les variétés « Lubrette », « Soplina » ont été nettement améliorées sur ce plan (Emile *et al.*, 1995).
- L'hybridation interspécifique : elle a été tentée afin de développer des hybrides amphiploïdes doublés entre *F. arundinacea* subsp. *arundinacea* X *F. gigantea* et des variétés analogues entre races européennes et méditerranéennes «Lutine » et « Lunibelle » par exemple. Ce type de matériels se caractérise par un démarrage en végétation précoce et une digestibilité améliorée (Emile *et al.*, 1995).
- L'hybridation inter génériques entre Fétuque et ray-grass d'Italie : dans la nature, les espèces *Festuca* et *Lolium* s'hybrident et s'échangent régulièrement des gènes à haute fréquence. Cette technique a permis de donner naissance à des nouveaux cultivars ; *Festulolium* qui associent la productivité et la digestibilité du ray-grass, à la pérennité de la fétuque (Humphreys *et al.*, 2003 ; Zwierzykowski, 2004).

4 La sélection des graminées pérennes

4.1 La tolérance à la pâture

La tolérance à la pâture se définit comme l'action de minimiser la mortalité du feuillage, des talles et des plantes après pâturage en améliorant la reprise de l'herbe pâturée (Rogers and Lush, 1989).

La pâture affecte la croissance de l'herbe car les bourgeons peuvent ne pas monter si les réserves venant des feuilles basales ne sont assez suffisantes pour soutenir cette croissance (George *et al.*, 1989) et donc cela se répercute sur le nombre de plantes, le nombre de tiges par plante et le nombre de feuilles par talle d'où l'intérêt de maintenir la densité de talles à son optimum après pâturage (Mefti, 2012).

Selon Culvenor (1994), si on cherche à améliorer la tolérance à la pâture, la taille des feuilles est utilisée comme indice de sélection indirecte pour améliorer la densité des talles. Cette dernière est dépendante de la densité foliaire qui est elle-même dépendante du taux d'apparition des feuilles et il y'a une relation inverse entre la durée de la croissance de la feuille et le nombre de feuilles par unité de surface. Chapman *et al.*, (1992) confirment que les cultivars aux feuilles de faibles dimensions, de port prostré avec une densité de tallage élevée sont plus aptes à une utilisation intensive de la prairie ; par contre, les génotypes ayant de longues feuilles érigées et de port dressé s'adaptent plus à une utilisation moins intensive.

4.2 La précocité

La précocité constitue un important caractère en sélection, qui permet d'avoir une gamme étendue de précocité de démarrage de la végétation et d'épiaison. Une étendue de près de 2 mois existe entre les dates extrêmes d'épiaison chez les variétés hybrides obtenues par croisement entre les races européennes et méditerranéennes. Ces variétés sont résistantes au froid, elles se caractérisent par un bon démarrage à la sortie de l'hiver et une grande résistance aux maladies (Jadas-Hecart, 1993; Ghesquière and Jadas-Hecart, 1995).

4.3 La qualité fourragère

L'amélioration de la qualité du fourrage est un objectif majeur dans les programmes de sélections des graminées fourragères. A titre d'exemple, l'augmentation de la digestibilité de la matière sèche a été classée comme objectif important dans l'amélioration génétique de la valeur nutritive du fourrage (Smith *et al.*, 1997), car cette dernière diminue considérablement (> 10%) lorsque les plantes fleurissent et se forment (Buckner *et al.*, 1967; Radojevic *et al.*, 1994) et cette baisse contribue de manière significative à la baisse de la valeur nutritive du fourrage en été (Stone, 1994).

La lignification des parois cellulaires végétales a été identifiée comme le principal facteur responsable de la baisse de la digestibilité des tissus fourragers lorsqu'ils deviennent adultes (Buxton and Russell, 1988). Les effets inhibiteurs de la lignine dépendent de la composition des monomères de lignine, des groupes fonctionnels, de la teneur en lignine et de l'étendue de la réticulation à la paroi cellulaire des polysaccharides (Casler and Kaeppler, 2001).

Afin d'améliorer ce trait, des études moléculaires sont en cours et qui consistent à étudier la régulation de la baisse d'enzymes biosynthétiques du monolignol et cela par la suppression des sens et de l'anti sens dans les plantes fourragères transgéniques (Spangenberg, 2005).

Selon Edwards *et al.*, (1981) ; Isawa (1983), l'amélioration de la résistance aux maladies contribue considérablement à l'amélioration de la qualité fourragère, comme le cas de la sélection pour la résistance à la strie des feuilles, à l'échaudure et à la rouille rayée qui sont déjà en cours d'étude.

4.4 La tolérance au déficit hydrique et aux hautes températures

Selon le scénario d'émission de gaz à effet de serre, les augmentations prévues de la température annuelle moyenne mondiale vont se varier entre 2,5 et 4,3°C dans la plupart des régions du monde d'ici 2080 à 2099 (Norton *et al.*, 2016). En Algérie, la rareté et le caractère irrégulier des précipitations (200 à 600 mm/an) sont les facteurs d'une perte partielle ou totale de production (Kara and Bellkhirib, 2011).

Ce déficit est susceptible aussi d'affecter l'ensemble des fonctions physiologiques de la plante à savoir : la photosynthèse, la nutrition minérale, le transport d'assimilat, la morphogénèse (Bradford and Hsiao, 1982) ; de même, la vitesse de croissance de la plante peut être aussi limitée d'avantage et cela est lié à l'intensité et de la durée de la sécheresse, du stade de développement de la plante, du génotypes et de son interaction avec l'environnement (Yokota *et al.*, 2006).

Afin de lutter contre le risque de dessèchement, les plantes ont recours à des mécanismes qui leur permettent de survivre à des situations difficiles. La plante doit soit augmenter l'absorption d'eau ou bien diminuer sa transpiration (Figure 3). Selon Volaire *et al.*, (2009), la

plupart des espèces pérennes présentent une combinaison de mécanismes d'adaptations pour survivre aux sécheresses sévères (Figure 4).

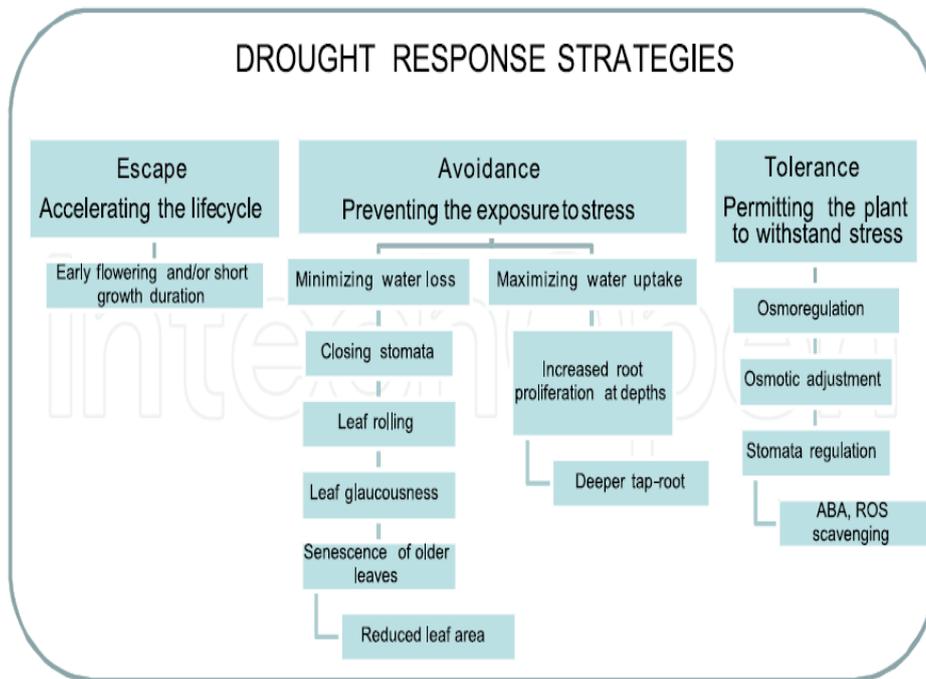


Figure 3 : Stratégies d'adaptation des plantes herbacées à la sécheresse (De Leonardis *et al.*, 2010).

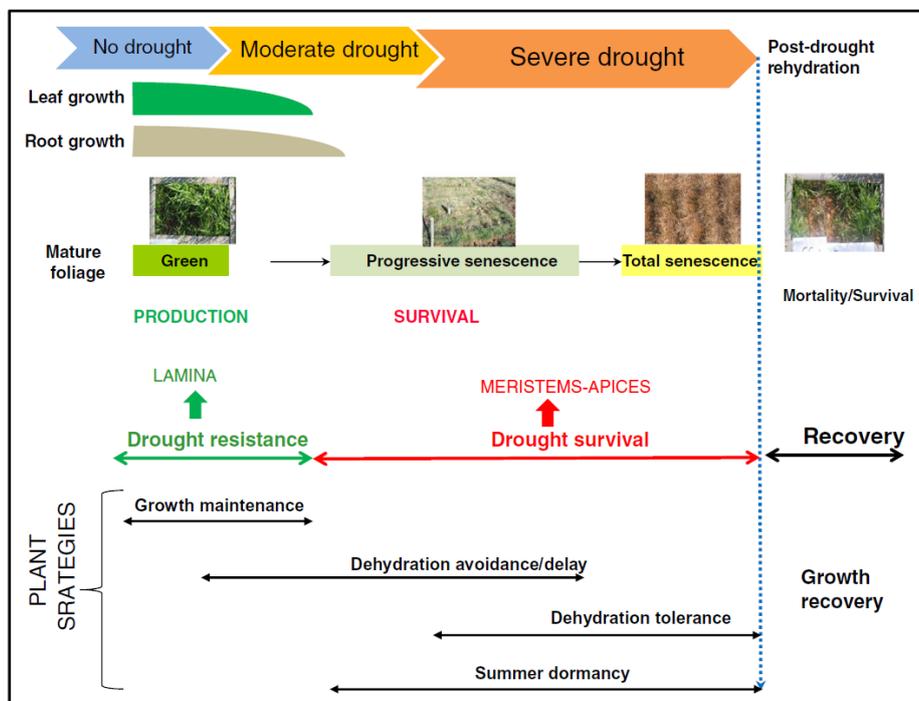


Figure 4 : Réponses schématiques à l'intensification de la sécheresse chez les graminées pérennes et les stratégies éco physiologiques qui en résultent (Norton *et al.*, 2016).

4.4.1 Mécanismes de tolérance des plantes à la sécheresse

4.4.1.1 L'esquive ou l'échappement

Les variétés qui adoptent cette stratégie, se développent en dehors de la période de contrainte intense, grâce à la modulation du cycle de développement pour l'adapter à la situation contraignante (Simane *et al.*, 1993; Araus *et al.*, 2002) en raccourcissant la durée de leur cycle, ces plantes s'échappent au stress hydrique. C'est le cas des plantes désertiques éphémères.

L'adaptation phénologique est donc un caractère souvent recherché en zones méditerranéennes, dans la mesure où il permet l'esquive du déficit hydrique terminal (Benseddik and Benabdelli, 2000).

4.4.4.2 L'évitement de la déshydratation

C'est la capacité de la plante à maintenir un état hydrique satisfaisant. La stratégie de l'évitement est principalement liée, d'une part à la réduction de la perte d'eau par la réduction de la transpiration et d'autre part, à une optimisation de l'absorption d'eau par les racines. Les substrats carbonés produits, dans ce cas, sont dirigés en priorité vers les racines pour leur développement au profit de la partie aérienne (Housley *et al.*, 1982; Turner *et al.*, 2001 ; Kavar *et al.*, 2008).

➤ la réduction de la transpiration

Elle est principalement liée à la fermeture des stomates, en effet le potentiel hydrique foliaire sera maintenu d'autant plus longtemps que la fermeture des stomates est précoce. Elle peut être aussi due à une diminution de la surface évaporante et la diminution de la conductance stomatique. Les génotypes à faible conductance sont sensibles au déficit de vapeur et à la baisse du potentiel hydrique foliaire que les génotypes à conductance élevée. Une faible conductance est généralement proposée comme un caractère favorable à l'adaptation à la sécheresse (Turner, 1986 ; Ludlow, 1989).

La diminution de la surface foliaire, du nombre de talles conditionnent la résistance à la sécheresse, vu qu'une surface foliaire élevée perdra plus d'eau qu'une faible surface foliaire (Belkherchouche *et al.*, 2009).

➤ l'enracinement

L'accès à la ressource en eau par le système racinaire conditionne directement la tolérance à la sécheresse chez les graminées pérennes (Ghesquière and Jadas-Hecart, 2015), cette dernière peut être expliquée par leur capacité d'extraire l'eau disponible dans les couches profondes du sol (enracinement important) et de maintenir un taux d'évapotranspiration élevé pendant la période sèche (Megherbi *et al.*, 2012). L'optimisation d'eau est liée à un ensemble complexe de caractères morphologiques des racines : masse, volume, ramification et profondeur (Ramanjulu and Bartels, 2002), la croissance racinaire en conditions sèches peut être maintenue par l'ajustement osmotique qui limite la baisse du potentiel de turgescence (Turner, 1986).

Les caractéristiques racinaires ne constituent qu'un des types d'adaptation que la plante doit aligner aux autres (adaptation physiologiques, morphologiques et phénologique reliées aux autres parties de la plante) pour faire face à la sécheresse (El Fakhri *et al.*, 2010).

4.4.1.3 La tolérance de la déshydratation

Selon Levitt (1980), une espèce est considérée comme tolérante à la déshydratation si seulement elle permet la diminution de son potentiel hydrique quand le déficit hydrique augmente, et cela est obtenu par l'ajustement de son potentiel osmotique grâce à l'accumulation de molécules solubles compatibles.

L'accumulation de ces solutés dans le cytoplasme permet à la plante de maintenir sa turgescence et de continuer ses fonctions métaboliques avec une quantité d'eau moindre (Morgan, 1984), et donc il en résulte la protection des membranes et des systèmes enzymatiques des jeunes organes.

Les solutés responsables de l'ajustement osmotique sont essentiellement des acides organiques (ex. l'acide malique), des acides aminés et des sucres (Eckardt, 2002). L'accumulation de la proline en réponse au stress est un phénomène largement répandu chez

les plantes (Stewart and Ellison, 2010), elle joue un rôle d'osmoticum de par les fortes concentrations qu'elle atteint dans le cytoplasme, sa présence pourrait être associée à la survie des feuilles et la reprise de végétation après la période de stress hydrique (Aspinall and Paleg, 1981). Les protéines LEA telles que la dehydrines et les sucres comme les fructanes jouent aussi un rôle dans la protection des cellules des effets négatifs de la déshydratation (Bray, 1993).

L'élasticité membranaire, la réduction de la taille des cellules et la résistance protoplasmique sont aussi des mécanismes qui interviennent dans le maintien de la turgescence cellulaire (Tyree and Jarvis, 1982). La résistance protoplasmique est mesurée par l'efflux des électrolytes à partir de segments foliaires exposés à un stress hydrique (Martin *et al.*, 1987).

En cas de sécheresses modéré les graminées pérennes, ont recours à l'évitement et /ou à la tolérance à la déshydratation pour résister et pour le maintien de leur croissance aérienne. Inversement en cas de sécheresse sévère, les plantes combinent les deux stratégies : l'évitement et la tolérance à la déshydratation pour s'adapter et cela se produit principalement dans les tissus méristématiques, qui sont les seuls organes végétaux pouvant survivre les sécheresses sévères (Volaire *et al.*, 2014).

Pour faire face à l'augmentation de la sécheresse affectant la production fourragère dans le monde, il sera nécessaire de concevoir des idéotypes de plantes fourragères assurant une production durable par le maintien de leur croissance sous une sécheresse modérée ou sévère (Volaire *et al.*, 2014), il est important aussi de choisir des espèces à système racinaire profond comme les fétuques élevées, les festulolium, les dactyles, les trèfles rouges et la luzerne pour empêcher la réduction du rendement pendant les périodes de manque d'eau (Ergon *et al.*, 2018).

Le deuxième défi consiste à développer la conception et les pratiques agronomiques par le semis de mélanges d'espèces ou de variétés pour « tamponner » les situations extrêmes en associant des espèces plus résistantes, relativement moins productives mais tolérantes à l'ombrage (dû à la compétition en saison humide), à des variétés plus productives (Durand *et al.*, 2013)

4.4.1.4 La dormance estivale

Sous climat méditerranéen, quand la sécheresse et les températures élevées menacent la survie, certaines espèces et certains génotypes de graminées pérennes répondent classiquement par une dormance estivale qui se manifeste par un arrêt ou réduction de la croissance foliaire, une sénescence moyenne ou totale des limbes, déshydratation des bases de feuilles encloses (organes de survie) et enfin formation soit d'un nœud moelleux au niveau de la couronne basale, soit d'un organe souterrain bulbeux ou bien des renflements à la base des tiges où sont stockés les réserves servant pour la survie au cours de l'été et pour la régénération des bourgeons, en fin d'été – début d'automne (Volaire and Norton, 2006).

La dormance estivale se différencie des autres types de réponse à la sécheresse du fait qu'elle ne s'exprime qu'en été car son induction répond à des variations de photopériode et de température (Ding and Missaoui, 2017). Elle est endogène car sous contrôle hormonal et elle est observée aussi bien en conditions sèches qu'irriguées mais c'est seulement sous irrigation estivale qu'elle peut être distinguée des réponses classiques à la sécheresse (Laude, 1953).

Selon la combinaison de réponses, nous pouvons distinguer trois groupes principaux de graminées pérennes (Volaire and Norton, 2006) :

- Les populations qui maintiennent une croissance active sous irrigation avec des taux de sénescence équivalents à ceux du printemps. Ces populations sont non dormantes, d'origine continentale.
- Les populations dont la croissance des tissus aériens est totalement arrêtée pendant un minimum de quatre semaines et pour lesquelles on observe une forte sénescence des limbes et une déshydratation endogène des tissus méristématiques. Ces populations ont une dormance complète comme le cultivar de dactyle de référence « Kasbah » (Volaire, 2002).
- Les populations dont la croissance aérienne est notablement réduite, avec une sénescence partielle des limbes mais pas de déshydratation des bases de feuilles. Cette dormance incomplète est exprimée dans de nombreux cultivars d'origine méditerranéenne comme le cultivar « Flecha » de la fétuque élevée (Volaire and Norton, 2006).

Afin d'estimer le niveau de dormance estivale qu'elle soit complète ou incomplète Norton *et al.*, (2008) montrent la faisabilité d'un indice quantitatif, si seulement l'évaluation de la dormance estivale est menée dans des conditions d'apports d'eau non limitantes, et qui sont les suivants :

➤ Indices d'évaluation de la production de biomasse

S/Sndc = Basé sur la comparaison du rendement herbagé en été d'un génotype (**S**) avec celui d'un cultivar non dormant (le plus productif) (**Sndc**), Cet indice est considéré comme la méthode la plus fiable dans le cas où on considère une gamme de cultivars de potentiels de production similaires, sa formule est la suivante

$$= (100 - [\text{Rendement d'été du cultivar (S)} / \text{Rendement d'été du cultivar témoin non dormant (Sndc)}] * 100) / 10$$

S/Sp = Pour mesurer la dormance d'une gamme de matériel incluant des écotypes spontanés à faible productivité, l'indice doit être pondéré du potentiel de production donné par la biomasse de printemps, sa formule est la suivante :

$$= (100 - [(\text{Rendement d'été du cultivar (S)} / \text{Rendement du printemps du même cultivar (Sp)}) * 100] / 10$$

➤ Indice d'évaluation de la sénescence d'herbage

VSENi : c'est l'indice qui représente l'évaluation visuelle de la sénescence sous irrigation, il suppose que l'intensité de dormance est équivalente au pourcentage de sénescence des herbes.

la dormance, qu'elle soit complète chez le dactyle, ou incomplète chez la fétuque, est corrélée à la capacité de survivre à une sécheresse sévère, à une reprise active de croissance après les pluies d'automne et donc à une meilleure pérennité et productivité pluriannuelle (Norton *et al.*, 2006), ces traits pourront avoir une grande importance dans le développement des graminées pour les régions méditerranéennes (Volaire *et al.*, 2005).

Cependant la dormance complète est en général associée à un faible potentiel de production, il serait donc nécessaire de déterminer le contrôle génétique de ce trait pour développer des cultivars dont la gamme de dormance serait associée à un niveau supérieur de productivité.

C'est dans ce sens que certains travaux ont été faits tels que ceux de Kallida *et al.*, (2016) qui avaient comme objectif d'évaluer la possibilité de casser la corrélation négative entre la dormance estivale et la production fourragère et d'identifier des loci de caractères quantitatifs (QTL) pour ces caractères dans les descendances. Pour cela, ils ont opté pour un croisement génétique chez le dactyle entre des individus de la variété de référence « Kasbah » qui est dormante et peu productive et des individus de la variété « Medly » qui est non dormante et productive et de les comparer avec un témoin de la variété tempérée « Ludac » non dormante. Les résultats obtenus démontrent qu'il devrait être possible de créer des variétés de dactyle dormantes avec une productivité annuelle élevée.

4.4 La persistance (La pérennité)

La persistance de la prairie est une préoccupation majeure de l'éleveur car les plantes subissent de nombreux stress de diverses origines (tassements des machines, surpâturages..) ainsi que le stress climatique qui amplifie les effets liés aux problèmes d'exploitation.

La capacité de reprise après l'avènement épisodique de la contrainte hydrique est une caractéristique importante dans le domaine de sélection des graminées pérennes car cette capacité permet à la prairie de persister. Selon Norris and Thomas (1982), une bonne reprise après une période sèche est plus importante que la croissance au cours de cette période. Il est important donc de cibler, en sélection, la survie associée à une reprise rapide dès que la pluie revient.

Wilson (1978) fait remarquer que du point de vue évolution, les graminées pérennes dépendent de la pâture pour persister, quoique la plus part d'entre elles ne sont pas parfaitement résistante à un pâturage intensif.

Une autre piste peut être envisagée et qui concerne la génétique végétale, par l'augmentation de la diversité végétale, qu'il s'agisse de la diversité intra spécifique ou de la diversité fonctionnelle entre espèces car les méthodes classiques qui consistent à sélectionner les meilleurs phénotypes dans des environnements modifiés ressemblant aux conditions climatiques du futur nécessitent plusieurs cycles de sélection et d'une dizaine d'années chacun, ce qui est contraignant du point de vue temps (Volaire *et al.*, 2013).

5 Etude de la diversité génétique chez les espèces fourragères

L'utilisation des marqueurs moléculaires fait partie intégrante de nombreuses stratégies d'amélioration des plantes depuis plusieurs décennies, et tend aujourd'hui de plus en plus à se généraliser. Depuis les premiers marqueurs biochimiques jusqu'aux nouvelles technologies de séquençage, les méthodes analytiques n'ont évidemment cessé de se développer (Falque, 2011).

Selon Roldán-Ruiz *et al.*, (2005), trois principaux champs d'application sont identifiés en ce qui concerne les marqueurs moléculaires: (i) l'analyse de la diversité et la caractérisation des ressources génétiques, (ii) l'identification de marqueurs ADN liés aux caractères d'intérêts pour la sélection et (iii) l'identification et la protection des variétés .

La diversité génétique des graminées pérennes a été testée par plusieurs marqueurs tels que le polymorphisme de longueur des fragments amplifiés (AFLP) (Mian *et al.*, 2002; Saha *et al.*, 2005; Mefti *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2018) ou par les microsatellites ou SSR (Simple Sequence Repeat) (Tuna *et al.*, 2004; Sharifi Tehrani *et al.*, 2009; Xie *et al.*, 2010; Hand *et al.*, 2012a; Mao *et al.*, 2016; Pirnajmedin *et al.*, 2016), mais le développement de ces marqueurs traditionnels était un processus itératif coûteux qui impliquait soit un clonage et des tests enzymatiques longs, soit des étapes de conception des amorces qui ne pouvaient pas être facilement parallélisées (Davey *et al.*, 2011).

Aujourd'hui, l'émergence de technologies de séquençage connues sous le nom générique de « Next – Generation Sequencing (NGS) » a révolutionné la génomique et les approches transcriptomiques de la biologie. Ces nouveaux outils de séquençage sont également précieux pour la découverte, la validation et l'évaluation des marqueurs génétiques dans les populations. Ces méthodes changent drastiquement les perspectives du séquençage en terme

de réduction du coût par base séquencée, ouvre la voie à des études génomiques de la diversité, même pour les cultures non modèles.

Les méthodes de séquençage à représentation réduite du génome (Reduced-Representation sequencing « **RRL** ») seront préférables à court terme, notamment parce que pour de nombreuses recherches les questions peuvent être répondues avec un petit ensemble de marqueurs et ne nécessitent donc pas le séquençage de chaque base du génome (Davey *et al.*, 2011).

5.1 Le génotypage par séquençage (GBS)

Les techniques de réduction du génome telles que le génotypage par séquençage (GBS) sont de plus en plus populaires. elles génèrent un grand nombre de polymorphismes mono nucléotidiques (Single Nucleotide Polymorphism « SNPs »), qui sont devenus les marqueurs génétiques moléculaires de choix pour une large gamme d'applications, en raison de leur abondance dans le génome, de leur nature co-dominante et de leur aptitude à la détection de haut débit, qui produit des résultats avec un faible taux d'erreur (Hand *et al.*, 2012b).

le génotypage par séquençage apparaît comme un outil puissant efficace et une approche utile pour l'analyse de la diversité génétique, qui a été testée dans plusieurs espèces (Bushman *et al.*, 2016; Gürcan *et al.*, 2016; Campa and Ferreira, 2018; Campa *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2018; Siadjeu *et al.*, 2018).

5.1.1 Principe de la méthode de GBS :

En général le génotypage par séquençage (GBS) se réalise en 5 étapes (Elshire *et al.*, 2011) (Figure 5) :

- Réduction de la complexité du génome avec les enzymes de restriction, qui sont utilisés soit seules (ex : ApeKI) ou en combinaison (PstI + MspI/ HinfI + HpyCH4IV) (Poland and Brown, 2011; Fu *et al.*, 2016). Selon Elshire *et al.*, (2011), l'enzyme PstI est recommandée pour les mammifères et les oiseaux, le EcoT22 I est bien pour les poissons, les amphibiens et les invertébrés par contre le ApeKI est à conseiller pour les espèces fourragères.
- Ligature des adaptateurs à l'extrémité collante des ADN génomiques, deux types d'adaptateurs sont utilisés : un adaptateur de code à barres et un adaptateur commun.

Le code à barres est une séquence de 4 à 8 bases qui permet d'identifier un individu (Figure 6).

- Amplification des produits ligaturés avec des amorces complémentaires avec les deux adaptateurs.
- Séquençage des fragments d'ADN codés par code à barres dans un séquenceur à haut débit.
- Analyse bioinformatique des lectures de séquences indexées pour identifier les SNP

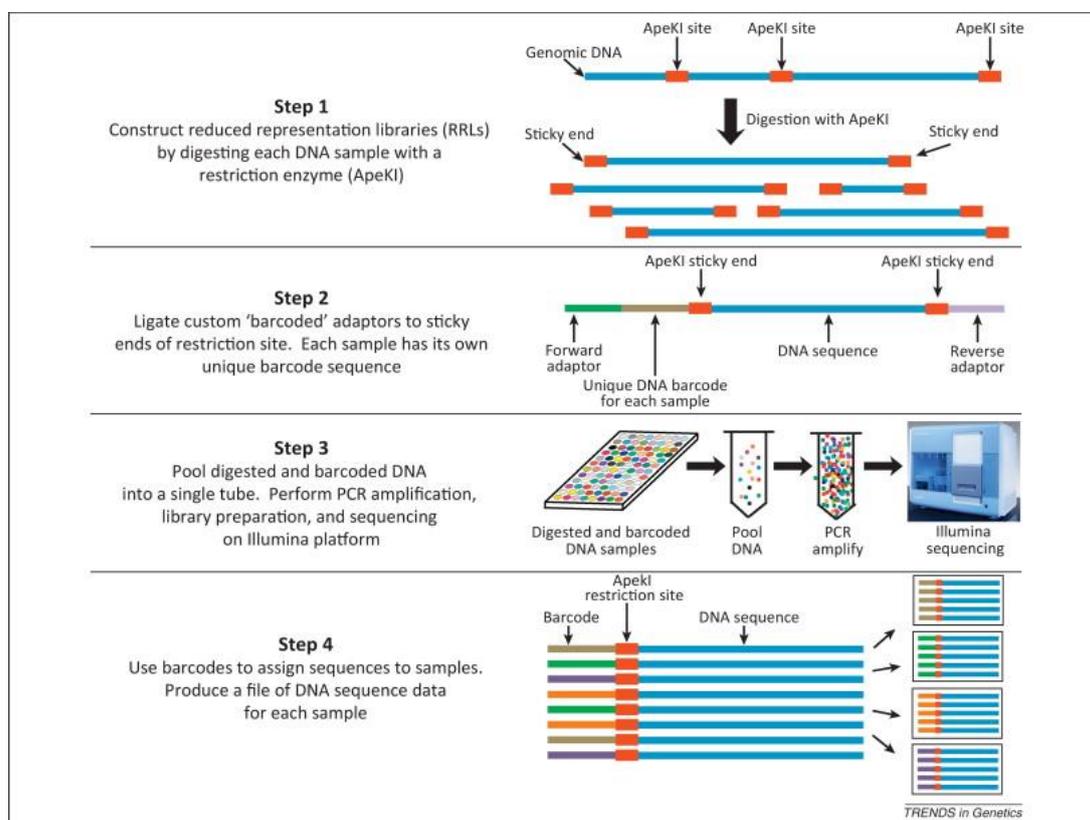


Figure 5: Etapes de la construction de la librairie GBS (Myles, 2013).

GBS Adapters and Enzymes

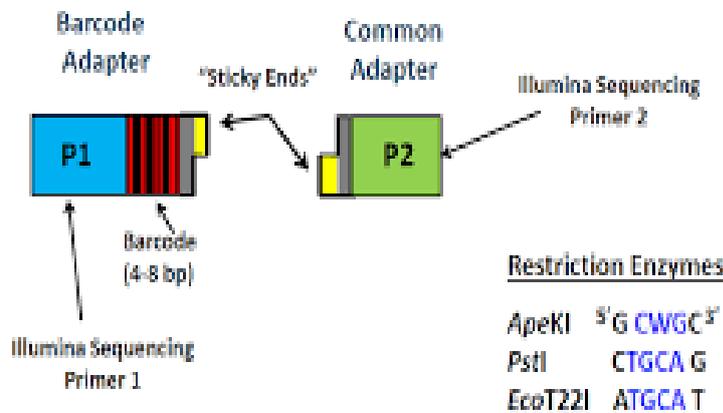


Figure 6: Types d'adaptateurs utilisés dans le génotypage par séquençage (Trushar and Rajneesh, 2016)

5.1.2 Avantages de la méthode de GBS

L'approche GBS est facile, rapide et peut atteindre des régions importantes du génome qui sont inaccessibles à la séquence (Peterson *et al.*, 2014), car elle est beaucoup plus susceptible de cibler des parties non codantes (en plus des codantes) du génome (Clevenger *et al.*, 2015).

Elles présentent l'avantage du faible coût par échantillon par rapport aux analyses précédentes, et sont obtenues en multiplexant des échantillons de nombreuses différentes entités génétiques (par exemple, 48, 96 ou 384) simultanément grâce à l'utilisation de « codes à barres » spécifiques, courts et ligaturés à chaque échantillon avant le séquençage (Huang *et al.*, 2014), donc elles permettent de séquencer une fraction du génome pour plusieurs individus.

Ces techniques sont un moyen efficace d'explorer la diversité des génomes dans les cultures non modèles et pour lesquelles aucun génome de référence n'est disponible (Berthouly-Salazar *et al.*, 2016).

5.1.3 Autres application de la méthode de GBS

En plus de son application dans les études de diversité génétique le GBS peut être appliqué en d'autres domaines à savoir :

- La sélection génomique (Poland *et al.*, 2012a) ;
- La sélection assistée par marqueurs (He *et al.*, 2014) ;
- La Cartographie de liaison / QTL (Hueber *et al.*, 2015; Pootakham *et al.*, 2015) ;
- La génomique des populations ;
- La découverte de marqueurs ;
- Les études phylogénétiques ;
- L'assemblage du génome.

5.1.4 Limites de la méthode GBS

Selon Aitken and Olah (2016), La méthode de GBS présente une certaine limite car elle nécessite une grande quantité d'ADN et qui doit être de haute qualité et par conséquent, elle n'est pas bien adapté aux espèces dégradées telles que les traces ou les spécimens de musée.

5.2 La découverte des SNP

Parmi de nombreuses technologies actuellement disponibles pour générer des données de séquences, Illumina a été recommandée pour la génération des SNP en raison de son prix abordable et de sa capacité à produire une couverture de lecture assez élevée requise pour détecter sans ambiguïté les allèles dans les polyploïdies (Clevenger *et al.*, 2015).

Cependant, l'identification des SNP dans les polyploïdes est plus difficile en raison de la nécessité de distinguer les SNP homéologues (positions polymorphes se produisant dans les sous-génomes au sein et entre les individus) des SNP alléliques (positions polymorphes se produisant dans un seul sous-génome chez les individus) (Clevenger *et al.*, 2015).

Les SNP peuvent être découverts par l'alignement des séquences sur le génome de référence (Alipour *et al.*, 2019) ou un pipeline bioinformatique appelé (UNEAK) « Universal Network Enabled Analysis Kit » est mis en œuvre dans le logiciel TASSEL-GBS (Glaubitz *et al.*, 2014) et développé par Fei Lu *et al.*,(2013) est utilisé pour détecter des SNP de haute

qualité de manière fiable même dans les espèces polyploïdes les plus difficiles et quand aucun génome de référence n'est disponible (Clevenger *et al.*, 2015).

5.2.1 Conception générale de « UNEAK »

Le pipeline UNEAK est basé sur le principe suivant (Fei Lu *et al.*, 2013):

- Les lectures sont coupées à 64 pb (À l'exclusion des codes à barres), les bonnes lectures sont définies si elles portent une correspondance parfaite avec le code à barres sans avoir des données manquantes dans les 64 pb qui suivent le code à barre (Figure 7.A);
- Les lectures identiques de 64 pb sont groupées en « Tag » (« tag » est une séquence unique représentant un groupe de lectures) (Figure 7.B);
- L'alignement des tags par paires, à ce niveau des incompatibilités de pair de bases s'identifient, ces asymétries de paires de bases uniques sont des SNP candidats (Figure 7.C);
- En raison de la complexité du génome, de nombreuses paires de tags forment des réseaux, Un filtre de réseau est utilisé pour éliminer les réseaux complexes, qui sont généralement un mélange de répétitions, de paralogues et de tags d'erreur, idéalement, les seuls réseaux restants sont composés de paires de tags réciproques, qui peuvent ensuite être utilisées pour la découverte des SNP (Figure 7.D,E).

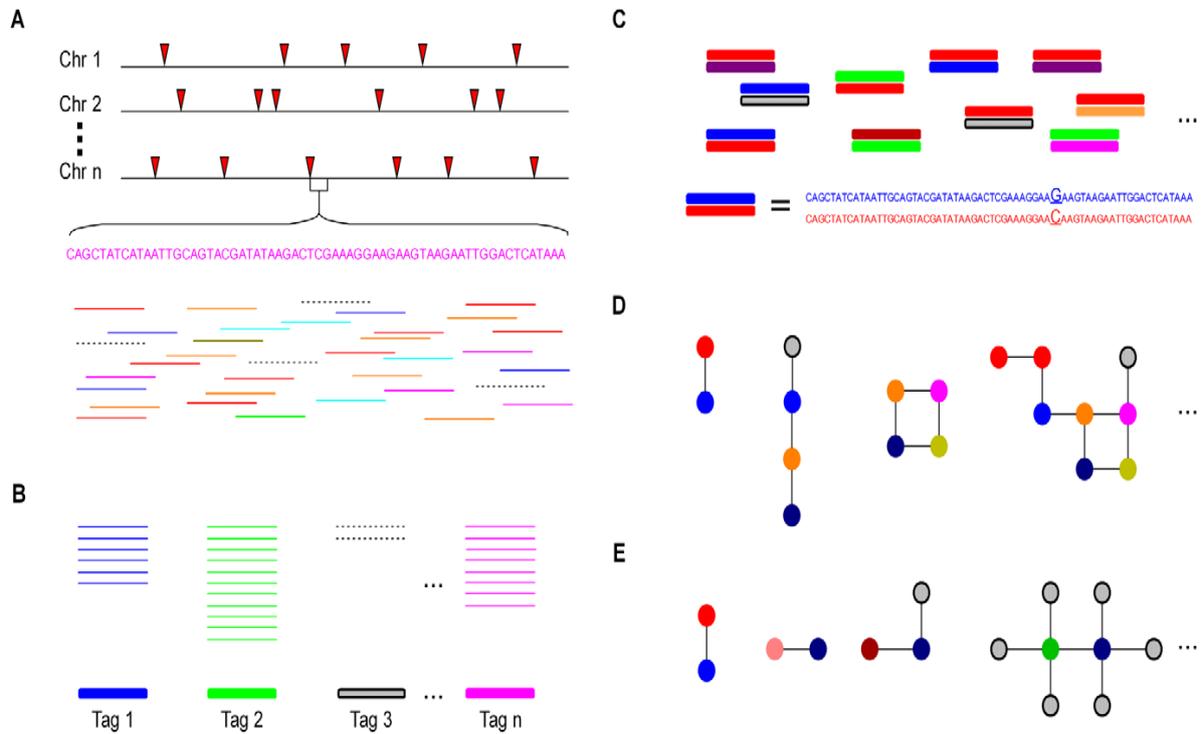


Figure 7: Principe du logiciel UNEAK ((**A**) les flèches rouges représentent les sites de restriction, les lignes colorées pleines représentent des lectures sans erreur «réelles», tandis que les lignes en pointillés sont des lectures contenant une ou plusieurs erreurs de séquençage. (**B**) Les lectures identiques sont classées comme une tag. Les barres colorées sont de véritables tags, tandis que la barre ombrée est des tags d'erreurs. (**C**) L'alignement par paires est effectué pour trouver des paires de tags qui diffèrent d'une seule paire de base. (**D**) Topologie des réseaux de tags. Les cercles colorés sont de véritables tags. Les cercles ombrés sont des tags d'erreur. Les lignes («arêtes») sont dessinées uniquement entre les tags qui diffèrent par une seule discordance de pb. (**E**) Seules les paires de tags réciproques et réelles sont conservées comme SNP) (Fei Lu *et al.*, 2013).

Chapitre II

Évaluation agronomique de quelques génotypes de dactyle (*Dactylis glomerata* L.) et de fétuque élevée (*Festuca arundinacea* Schreb.)

Introduction

La production fourragère en Algérie est de type extensif, en effet elle est assurée à 82% par la jachère, les chaumes de céréales, les pacages et les parcours tandis que les fourrages cultivés ne représentent que 2,38 % par rapport à la superficie utilisée par l'agriculture (MADR, 2015).

Ces ensembles se caractérisent par la faiblesse de leur productivité, qui restent loin de satisfaire les besoins alimentaires du cheptel en constante évolution et constituent donc l'une des principales contraintes de développement de l'élevage et de la filière lait en Algérie (Senoussi and Behir, 2010)

Pour combler le déficit fourrager enregistré, l'Algérie importe annuellement des quantités massives de graines fourragères (Issolah, 2008), ainsi que de la poudre de lait ; cette importation, malheureusement, connaît chaque année une hausse et engendre des coûts élevés.

Les possibilités de la relance de la production fourragère et pastorale existent et l'une des voies possibles consiste à valoriser les espèces qui s'adaptent mieux dans différents milieux de production. A titre d'exemple, les graminées fourragères telles que les fétuques et les dactyles offrent de grandes possibilités de développement comme cultures fourragères régulières et productives adaptées à des zones à pluviométrie moyenne (Mefti *et al.*, 2008).

Malgré la large gamme des cultivars fourragers disponibles de nos jours, il est difficile de trouver un matériel génétique localement adapté (Pecetti *et al.*, 2011). Une meilleure connaissance du matériel génétique disponible aide à sélectionner des génotypes adaptés aux conditions locales.

Actuellement très peu d'études ont été réalisées sur les populations algériennes de dactyle et de fétuque élevée. C'est dans ce contexte que l'objectif de ce chapitre s'inscrit et qui a pour but d'évaluer le comportement agronomique de populations locales de ces deux espèces et de les comparer à des cultivars méditerranéens afin de sélectionner celles qui se caractérisent par une bonne aptitude à valoriser l'humidité du sol lors de la période de croissance pour accumuler de la biomasse et d'être capables de survivre aux sécheresses estivales pour pérenniser la production.

Matériels et méthodes

1 Site expérimental

L'étude a été conduite au niveau de la station expérimentale de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique d'El Harrach dont les caractéristiques géographiques sont les suivantes : Latitude 36° 43' 10'' Nord ; Longitude 3° 9'03'' Est ; à 39 m d'altitude. L'expérimentation s'est déroulée au cours de deux campagnes agricoles 2016-2017 et 2017/2018. Afin d'analyser les caractéristiques physico-chimique du site expérimental, un prélèvement du sol à différentes profondeurs (20,40 et 60 cm) a été fait. L'analyse du sol a été réalisée au niveau du « laboratoire d'analyses des sols et des végétaux » au niveau du département « production végétales ». Les principales caractéristiques physico-chimiques du sol sont représentées dans le tableau 1.

Tableau 1: Principales caractéristiques physico-chimiques du sol

Paramètres		Teneurs	Méthodes d'analyse	Normes	Interprétations
Granulométrie (%)	Argiles	23,61	Méthode internationale par la pipette de ROBINSON	Triangle des textures de Henin	Sol à texture Limoneux-argileux sableuse
	Limons fins	3,07			
	Limons grossiers	16,9			
	Sables fins	54,28			
	Sables grossiers	2,14			
Calcaire total (CaCo3 %)		1,54	Méthode volumétrique par le calcimètre de BERNARD	< 5,6	sol peu calcaire
pH-eau		8,41	Méthode électrométrique par le pH-mètre	7,75 à 8,5	Sol alcalin
pH-Kcl		7,17		-	
Conductivité électrique CE _{1/5} (ms/cm)		0,0025	Conductimètre	0 < CE < 0,25	sol non salé
Carbone organique (%)		1,96	Méthode ANNE	-	sol riche en matière organique
Matière organique (%)		3,38	C (%) x 1,724	3-6	

2 Matériel végétal

L'expérimentation a porté sur l'étude de graminées fourragères pérennes constituées de 14 populations algériennes, dont 5 populations de dactyle (*Dactylis glomerata* L.) et 9 populations de fétuques élevée (*Festuca arundinacea* Schreb.), ainsi que 4 cultivars méditerranéens des deux espèces étudiées, et qui ont été utilisés comme témoins (Tableau 2).

Le choix de ces deux espèces (Dactyle et fétuque élevée) dans un seul site expérimental repose sur le fait que le semis des prairies en mélanges de plusieurs espèces est une pratique relativement courante et ancienne. Selon Protin *et al.*, (2014) Les prairies multi-espèces apparaissent de plus en plus comme un levier technique pour accroître l'autonomie dans l'alimentation des troupeaux, tout en préservant l'environnement .

La collection des populations a été faite en 1988 dans les différentes régions d'Algérie (Figure 8) dans le cadre d'un projet de collaboration entre l'Institut Technique des Grandes Cultures (ITGC, Alger), l'École Nationale Supérieure d'Agronomie (ex: INA, Alger) et l'Unité de Recherche Pluridisciplinaire des Prairies et Plantes Fourragères de Poitou- Charentes (INRA Lusignan, France). La collection a été conservée et multipliée en France par l'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA).

En ce qui concerne les cultivars étudiés, leurs origines ainsi que leurs caractéristiques sont les suivants

2.1 Le Dactyle

- **Medly** : Ce cultivar est d'origine méditerranéenne, c'est un cultivar précoce, produit par l'INRA sous les conditions climatiques du sud de la France. C'est une variété qui présente une grande capacité de résistance à la sécheresse dans les zones subhumides, mais supporte moins que le cultivar Kasbah les sécheresses estivales sévères (Volaire, 2002).
- **Ludac** : c'est un cultivar non méditerranéen créé par l'INRA de France avec du matériel breton et un peu galicien, connu pour sa productivité de biomasse élevée dans les zones tempérées et humides (Kallida *et al.*, 2016a).

2.2 La féтуque élevée

- **Centurion** : est une variété créée par l'INRA de Montpellier à partir de parents sélectionnés du sud d'Italie et de la Tunisie, elle est caractérisée par un développement hivernal vigoureux et une croissance très réduite (Lelievre and Volaire, 2009).

- **Lutine** : est un amphiploïdes (hybride entre le type continental et méditerranéen), créé par l'INRA de Lusignan (France). Il se caractérise par un bon niveau de production et une bonne résistance à la sécheresse (Lelièvre *et al.*, 2008).

Tableau 2: Liste des populations et des cultivars de dactyle et de fétuque élevée étudiés

Espèces	Numéros de géotypes*	Noms de géotypes*	Site de collection/Lieu d'obtention	Labels
Dactyle <i>Dactylis glomerata</i> subsp. <i>hispanica</i> (Roth) Nyman	438	Ruines_de_djemila	Ruines de djemila (Djemila,Setif)	Rdj
	439	Anouche	Anouche (El Milia)	Anc
	447	El_adaiek	El adaiek (skikda)	Edk
	452	Bone_faid_bouteldja	Bone faid bouteldja (Asfour, ElTarf)	Bfd
	434	Beni_embareck	Bejaia	Bnck
	0010	Medly	France	Med
	0011	Ludac	France	Lud
Fétuque élevée <i>Festuca arundinacea</i> subsp. <i>arundinacea</i> var. <i>genuina</i> schreb. (6x).	4977	FE5715	medea	FE5715
	4955	FE5716	Lazzouguene (Bejaia)	FE5716
	4953	FE5718	Tichy (Bejaia)	FE5718
	4982	FE5719	Souk El Tnine (Bejaia)	FE5719
	4950	FE5721	Bel Gheimouz (Jijel)	FE5721
	4960	FE5722	ramdane_djamal (Skikda)	FE5722
	4968	FE5725	Bone faid bouteldja (Asfour, ElTarf)	FE5725
	5019	FE5729	Zarouria (Souk Ahras)	FE5729
	4978	FE5730	Ghriss(mascara)	FE5730
	7010	Centurion	France	Cen
7011	Lutine	France	Lut	

* Le nom et le numéro des géotypes est identique à ceux mentionnés par l'unité de recherche pluridisciplinaire des prairies et plantes fourragères de Poitou- Charentes (Lusignan, France).

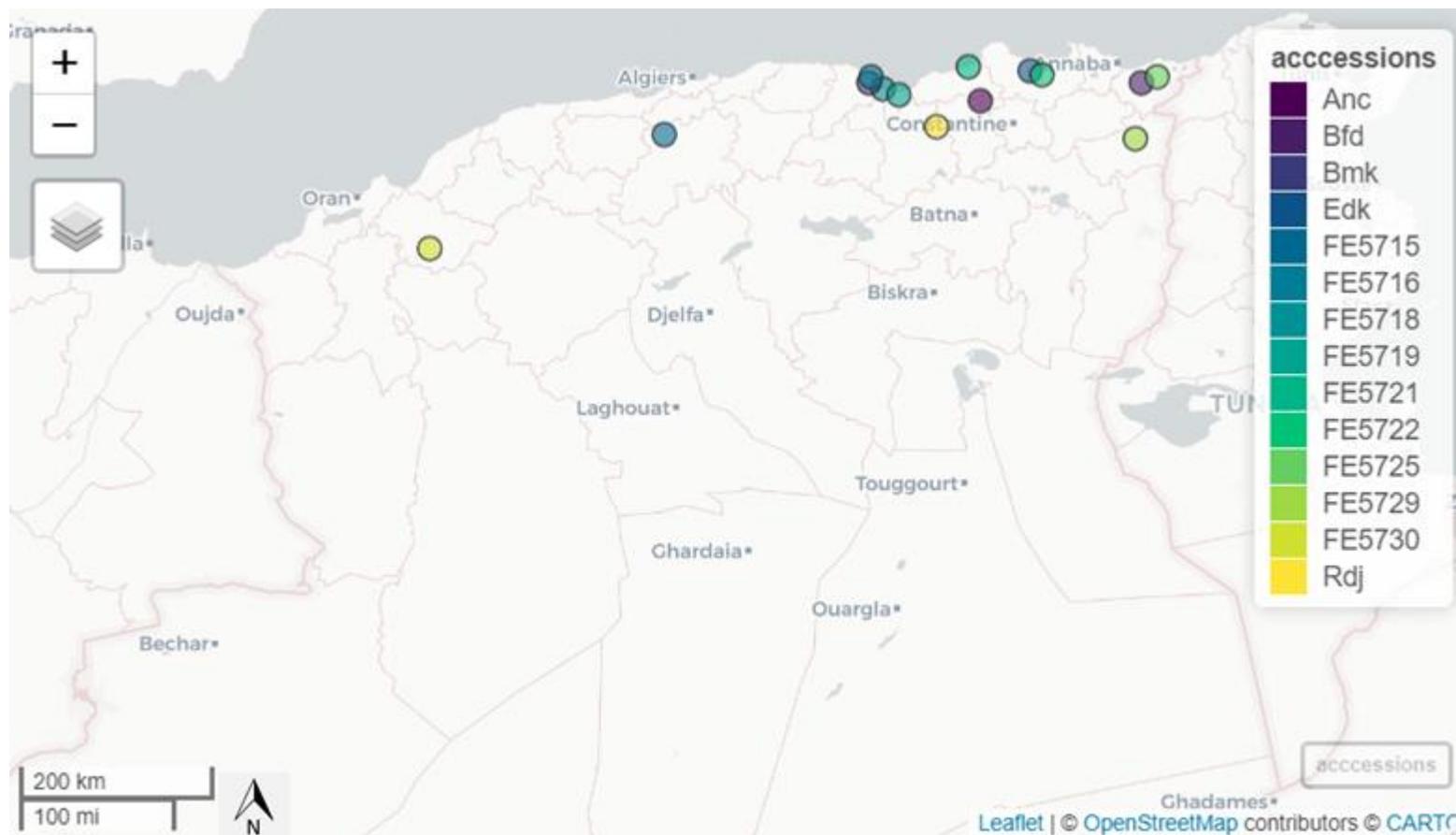


Figure 8 : Distribution géographique des populations de dactyle et de fétuques élevée à travers l'Algérie. Cette figure a été produite par le logiciel R version 3.6.1 avec les packages : mapview version 2.6.0 (<https://cran.r-project.org/web/packages/mapview/index.html>) et sf version 0.8-0 (<https://github.com/r-spatial/sf/>).

3 Conditions climatiques des campagnes d'étude

Au cours de notre étude nous avons enregistré une variabilité de pluviométrie très marquée d'un mois à un autre durant la campagne 2016/2017, un cumul mensuel de 252 mm a été enregistré en mois de janvier suivi d'une baisse très importante en mois de février avec un cumul mensuel de 16 mm. Les périodes estivales étaient caractérisées par une absence presque totale de précipitations et une augmentation des températures, allant jusqu'à une moyenne de 28,5° C au mois d'août. La campagne 2017/2018, a été contrairement plus au moins régulière en terme de précipitations d'un mois à l'autre, les mois les plus pluvieux étaient mars, avril et novembre avec des cumuls mensuels de 119 mm, 130,7 mm et 104 mm respectivement. Malgré l'irrégularité des pluies durant la campagne 2016/2017, le cumul annuel enregistré était de 665 mm comparativement à celui de 2018 qui était de l'ordre de 625,7 mm (Figure 9).

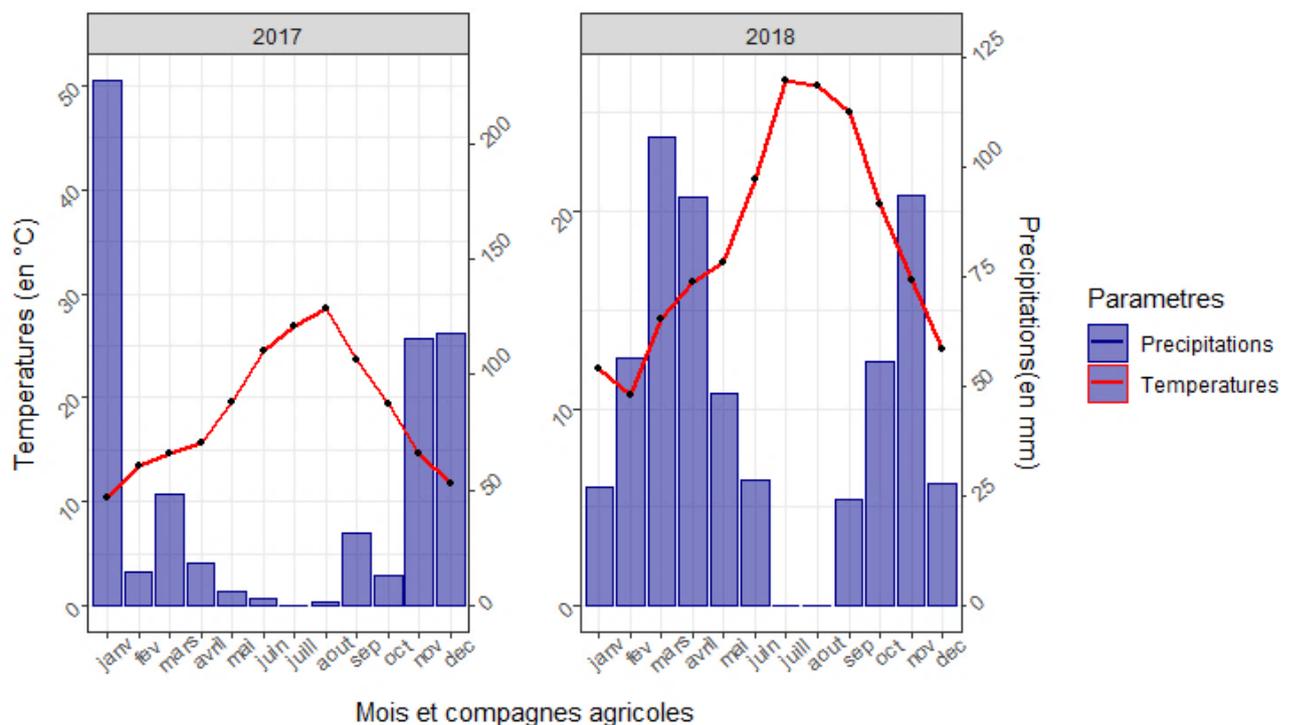


Figure 9 : Pluviométries et températures mensuelles enregistrées au cours des deux campagnes d'étude.

4 Dispositif expérimental

Le matériel végétal a été mis en place le 3 janvier 2016, sur une parcelle dont le précédent cultural était une jachère.

Le dispositif expérimental adopté est un dispositif en blocs aléatoires incomplets avec 3 répétitions, constituées chacune de 18 parcelles élémentaires. Chaque parcelle élémentaire est constituée de 6 rangs de 1 m de long avec un espace inter-rang de 0,20 m, et un espace de 0,5 m entre les sous blocs. L'espace entre les blocs est de 0,8 m. (Figures 10,11)

La répartition des génotypes a été faite aléatoirement au sein de chaque bloc. En raison du manque de semences pour les populations FE5722 et FE5715, nous avons opté pour un semis de 3 rangs par micro parcelle au lieu de 6 rangs comme pour le reste des génotypes.

Avant le semis, deux passages croisés de cover-crop et un passage avec un cultivateur canadien ont été réalisés afin de préparer la parcelle pour le semis qui a été réalisé manuellement, à raison de 0,4 g par mètre linéaire soit 2,4 g /1 m².

Bloc 1

Anc	FE5718	Cen	Lut	FE5716	Edk	FE5729	Rdj	FE5725
Bmk	FE5721	FE5730	FE5719	FE5715	FE5722	Bfd	Lud	Med

Bloc 2

Cen	FE5725	FE5718	Rdj	Med	Bfd	FE5716	Lud	Adk
FE5719	FE5730	Bmk	FE5721	FE5715	FE5722	Anc	FE5729	Lut

Bloc 3

FE5718	Edk	Rdj	Anc	FE5729	Cen	Lud	Med	Bfd
FE5722	FE5715	FE5719	Bmk	FE5721	FE5730	Lut	FE5725	FE5716

Figure 10 : Dispositif expérimental de cette étude



Figure 11: photos réelles de l'expérimentation

5 Conduite de l'essai

Le contrôle des mauvaises herbes a été réalisé tout le long du cycle soit manuellement, soit par application d'herbicide totale le glyphosate dans les bordures à raison de 6 à 9 L/ ha et d'un anti dicotylédone, le Desormone lourd D, à raison de 0,7 à 1 L/ ha.

Afin de lutter contre les attaques de champignons et de pucerons des applications du fongicide Occidor (0,5 à 1 ml/10 L) et de l'insecticide pychlorex (10 à 20 ml/ 10L) ont été faites.

Quant à la fertilisation, 40 U/ha d'azote sous forme d'urée à 36 % (1,14 kg pour la totalité de la parcelle mesurant 131,95 m²) ont été appliquées en pleine période de tallage et après chaque fauche. Un engrais foliaire phosphaté (Phasamco-cis) a aussi été apporté à raison de 205 kg/ha.

Pour avoir une meilleure installation des espèces ensemencées, des apports d'eau par aspersion ont été appliqués durant la première année d'expérimentation entre les mois de mars et Juin.

6 Notations réalisées

6.1 Paramètres morpho- phonologiques

- **L'épiaison**

Le début épiaison est noté dès la sortie de la première panicule. Cependant la date d'épiaison correspond au nombre de jours calendaires comptés du semis (ou bien du premier janvier pour la 2ème année d'expérimentation) à la date d'apparition de la panicule (NJE) pour 50% des plantes.

- **La hauteur végétative**

Elle constitue aussi ce qui est appelé hauteur de végétation au moment de la fauche (Lelièvre and Volaire, 1993), elle consiste à mesurer avant chaque coupe la hauteur de la végétation, où 3 à 4 notations par ligne sont prises pour chaque micro-parcelle.

6.2 Paramètres en relation avec la production fourragère

- **Rendement en matière verte (t/ha)**

C'est une estimer après la fauche de la matière fraîche. Il est effectué par saison: automnale, printanière et fin-printanière (cas de la 2ème année d'expérimentation, 2017/18). Le rendement fourrager par cycle est la somme des rendements saisonniers.

- **Rendement en matière sèche (t/ha)**

Il est estimé après passage à l'étuve de la matière fraîche fauchée à 85° pendant 48 h.

6.3 Paramètres en relation avec la pérennité

Le taux de recouvrement : Il consiste à noter après chaque fauche saisonnière (automnale, printanière et fin-printanière) le pourcentage de plants toujours en végétation dans les rangs.

6.4 Efficience d'utilisation d'eau

L'efficacité d'utilisation de l'eau (WUE) est définie par le ratio entre la biomasse aérienne produite (MS) et l'unité d'eau utilisée (CWU) au cours de la période durant laquelle la biomasse aérienne a été accumulée.

Le total des précipitations utilisées par la végétation (CWU) a été estimé à partir de la formule suivante :

$$CWU \text{ (mm)} = P + ASW_{\text{semis}} - ASW_{\text{fauche}}$$

Où

P = précipitations (mm),

ASW_{Semis} = humidité du sol disponible au semis ou à la reprise de la végétation après fauche,

ASW_{Fauche} = humidité du sol disponible au moment de la fauche.

L'eau consommée a été estimée grâce aux mesures de l'humidité du sol (%) au début du cycle et juste après la fauche puis la quantité d'eau disponible (mm) au moment de la fauche est déduite selon Duchaufour (1997) par la formule suivante :

$$\text{Eau disponible (mm)} = [(H_x - H_{PF}) * h * da] / 100 \text{ où}$$

- H_x = humidité pondérale du sol au moment de la fauche (%),
- H_{PF} = humidité du sol au point de flétrissement (13,2 %),
- h = profondeur de l'horizon en mm,
- da = densité apparente du sol du site expérimental ($1,48 \text{ g cm}^{-3}$)

L'humidité du sol pondérale a été déterminée après un prélèvement du sol avec une tarière hélicoïdale à différentes profondeurs (20cm, 40cm, 60cm) au moment de la fauche. Pour avoir une meilleure estimation de l'humidité de la parcelle 3 prélèvements pour chaque bloc ont été réalisés et donc au total 9 prélèvements ont servi au calcul de humidité pondérale du sol au moment de la fauche (H_x). Le poids frais (PF) du sol est déterminé directement par la pesée du sol avec une balance de précision alors que le poids sec (PS) est estimé après séchage du sol dans une étuve à 85° pendant 48 h.

$$H_x \% = [(PF-PS)/PS] *100$$

L'efficacité d'utilisation de l'eau (WUE) est calculée par la formule suivante :

$$WUE (\text{kg/ ha /mm}) = MS (\text{kg/ ha}) /CWU (\text{mm})$$

Résultats et discussions

1 Etude de la variabilité des caractères d'intérêt fourrager

1.1 Le rendement en matière fraîche et sèche

Durant l'expérimentation certaines populations de fétuque élevée semées n'ont pas germé à cause de la perte de leur faculté germinative (date de récolte 1993), il s'agit des populations suivantes : FE5715, FE5716, FE5719 et FE5730, donc nous avons continué le suivi de l'essai avec le reste des génotypes.

Au cours de la première année d'expérimentation, une seule coupe a été obtenue vue que la première année est une année d'installation. L'analyse de la variance pour le rendement frais a révélé un effet génotype significatif ($P = 0,03$) (Annexe 1) et un effet non significatif pour le rendement en matière sèche (Annexe 2). En effet, le rendement frais a varié de 0,02 t/ha pour la population de fétuque élevée « FE5721 » à 0,77 t/ha pour le cultivar de dactyle « Ludac » et de 0,01 t/ha à 0,55 t/ha de matière sèche toujours pour les mêmes génotypes (Figure 12).

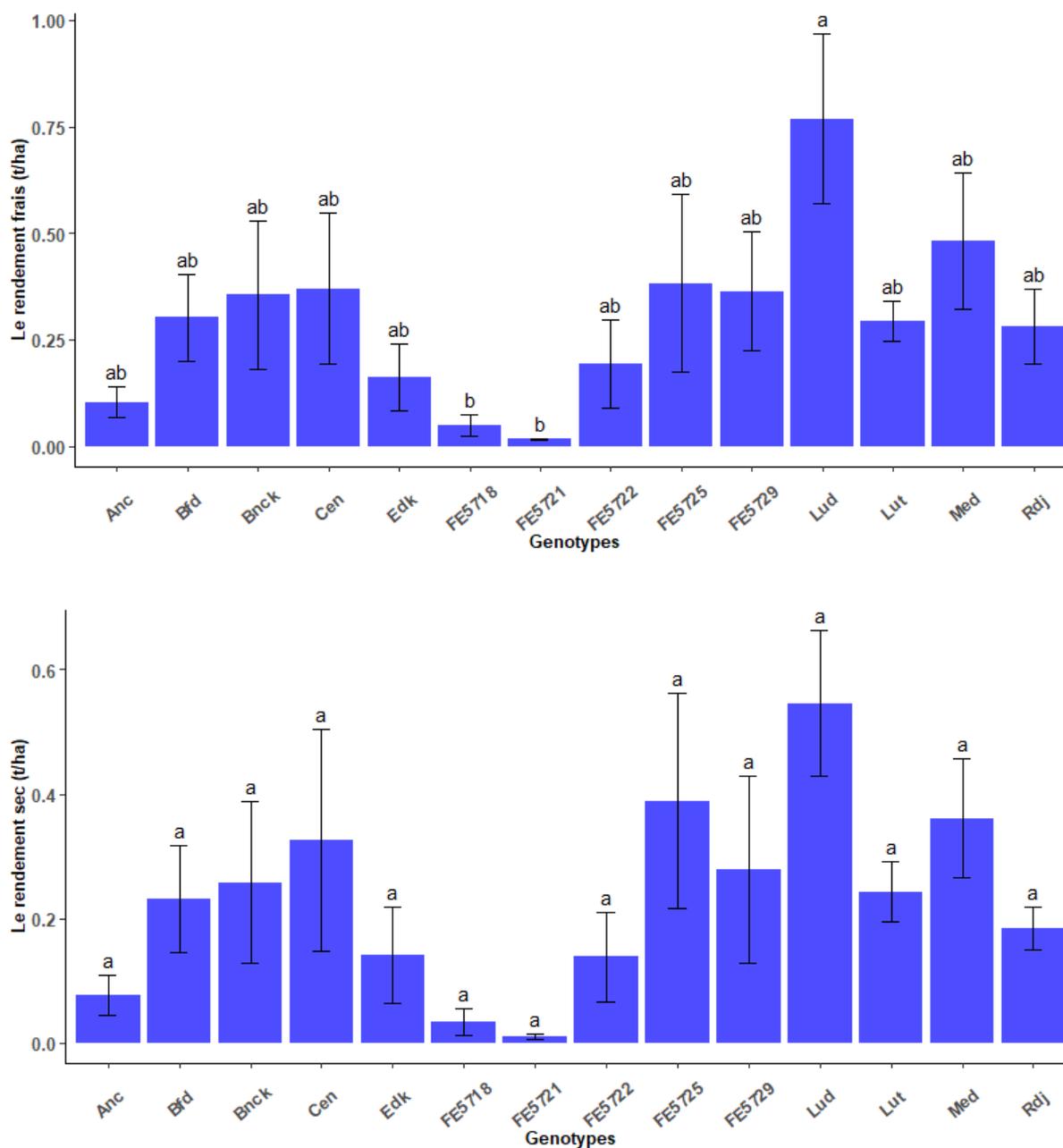


Figure 12 : Rendements moyens frais et secs (t/ha) accumulés au cours de la première année d’expérimentation ($P_{\text{rdt frais}} \llcorner \llcorner \text{génotypes}} = 0,03^*$; $P_{\text{rdt sec}} \text{ NS}$).

Certains génotypes semés n’ont pas persisté à la deuxième année d’expérimentation cela serait probablement dû à leur dormance estivale ou bien aux conditions liées à l’expérimentation, il s’agit de FE5718, FE5721, FE5722, FE5729, il en est de même pour les deux cultivars Ludac et Lutine, donc nous avons continué l’essai avec le reste des génotypes.

Le développement végétatif des différents génotypes étudiés a permis d’obtenir lors de la deuxième année d’expérimentation 3 coupes saisonnières, une coupe hivernale, printanière et

fin-printanière. L'analyse de la variance pour le rendement frais accumulé a révélé un effet hautement significatif pour la variable « saison » ($P = 1,091e-10 < 0,001$) tandis que, l'analyse du rendement en matière sèche a révélé un effet significatif des géotypes ($P = 0,0123$) et un effet hautement significatif pour la saison ($P = 2,567e-12 < 0,001$) (Annexes 3,4). Nous avons constaté que la coupe fin-printanière était la plus productive comparativement aux autres saisons avec un rendement moyen en matière fraîche de 10,26 t/ha et un rendement en matière sèche de 3,18 t/ha. Durant cette saison, nous avons remarqué une reprise assez rapide de végétation après la fauche printanière et cela était favorisée par le cumul pluviométrique et l'humidité du sol (109 mm, H = 15,42%) assez élevées. La population de dactyle « Anouche » a produit durant cette année le rendement moyen le plus élevé que ce soit pour la matière fraîche ou sèche, soit 7,06 t/ha et 2,35 t/ha respectivement ; tandis que le cultivar « Medly » a donné la production la plus faible avec un rendement moyen de 1,76 t/ha pour la matière fraîche et 0,5 t/ha pour la matière sèche (Figure 13).

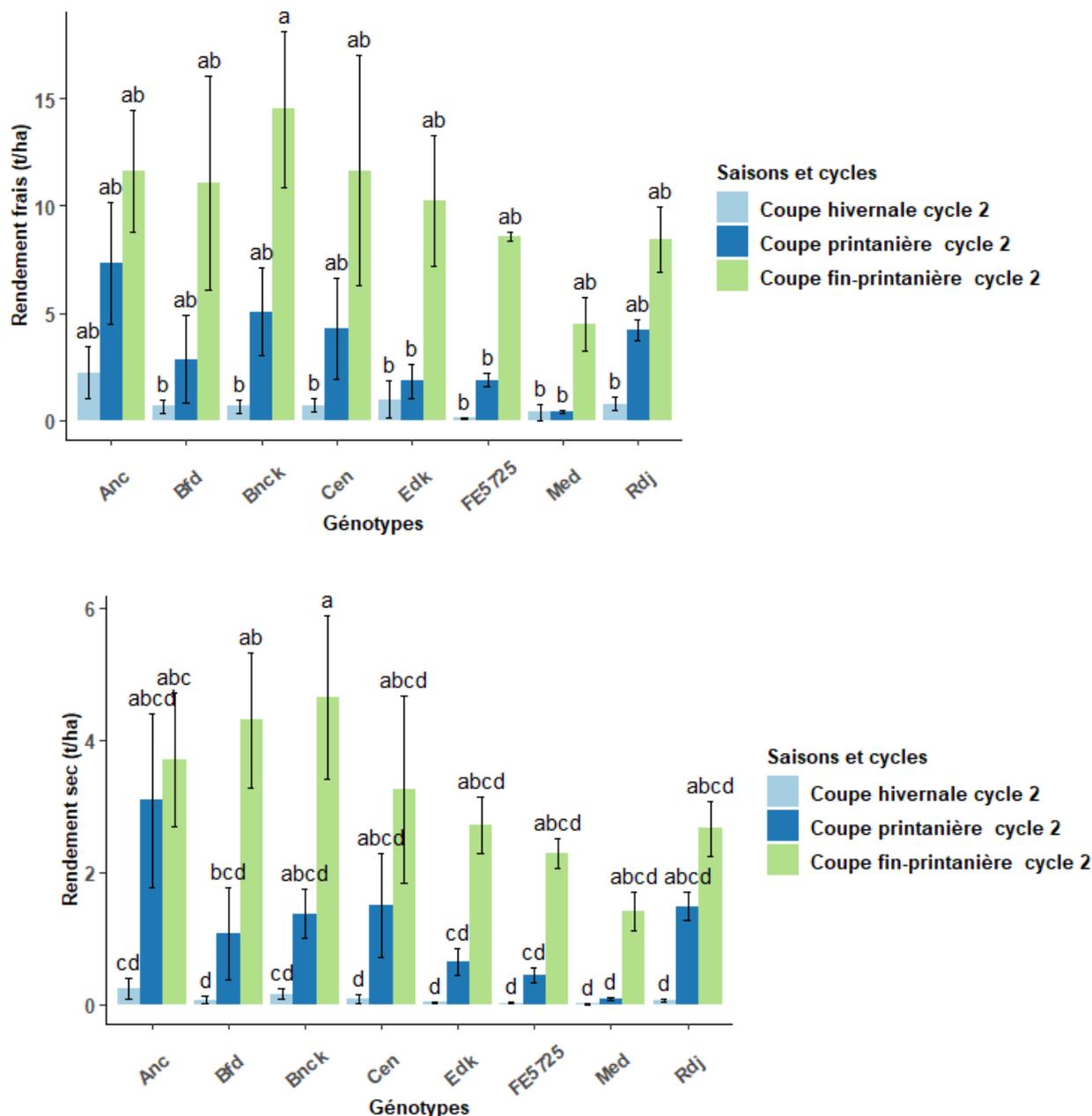


Figure 13: Rendements moyens frais et secs (t/ha) accumulés au cours des différentes saisons de la deuxième année d'expérimentation ($P_{rdt\ frais\ «\ saisons\ »} = 1,091e-10^{***}$; $P_{rdt\ sec\ «\ génotypes\ »} = 0,0123^*$; $P_{rdt\ sec\ «\ saisons\ »} = 2,567e-12^{**}$).

L'analyse statistique des géotypes ayant persisté pour les deux années d'expérimentation a indiqué un effet significatif à très hautement significatif pour l'année et cela pour la matière fraîche et sèche respectivement ($P = 0,000116 < 0,001$, $P = 0,0010$) (Annexes 5,6). La deuxième année a connu une augmentation importante de la production moyenne de matière fraîche, elle est de 4,78 t /ha comparativement à celle de l'année

d'installation qui était de 0,29 t/ha, il en est de même pour la matière sèche qui a augmenté de 0,23 t/ha à 1,47 t/ha.

Le classement des génotypes sur la base du rendement sec accumulé durant tout le cycle fait ressortir 4 groupes (Figure 14). Le premier est constitué par les populations de dactyles Ruines de djemila (Rdj), Anouche (Anc), Beni embareck (Bnck) et Bone faid bouteldja (Bfd), le deuxième est composé du cultivar Centurion (Cen), tandis que le troisième groupe comprend les génotypes Medly (Med) et FE5725 et le dernier est constitué de la population de dactyle El adaiek (Edk).

Les différences entre les groupes de génotypes apparaissent au niveau des moyennes de matières sèches produites où les individus du groupes 2, 3 et 4 sont les moins productifs avec des moyennes de toutes les coupes réalisées de l'ordre de 0,46 ;0,62 et 0,88 t/ha respectivement, alors que la moyenne du groupe 1 est de l'ordre de 1,48 t/ha.

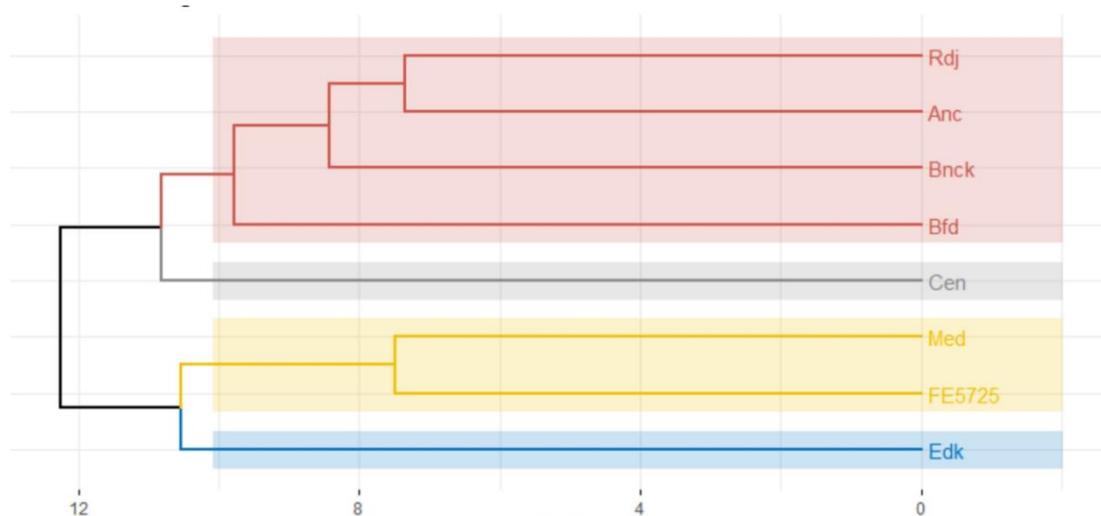
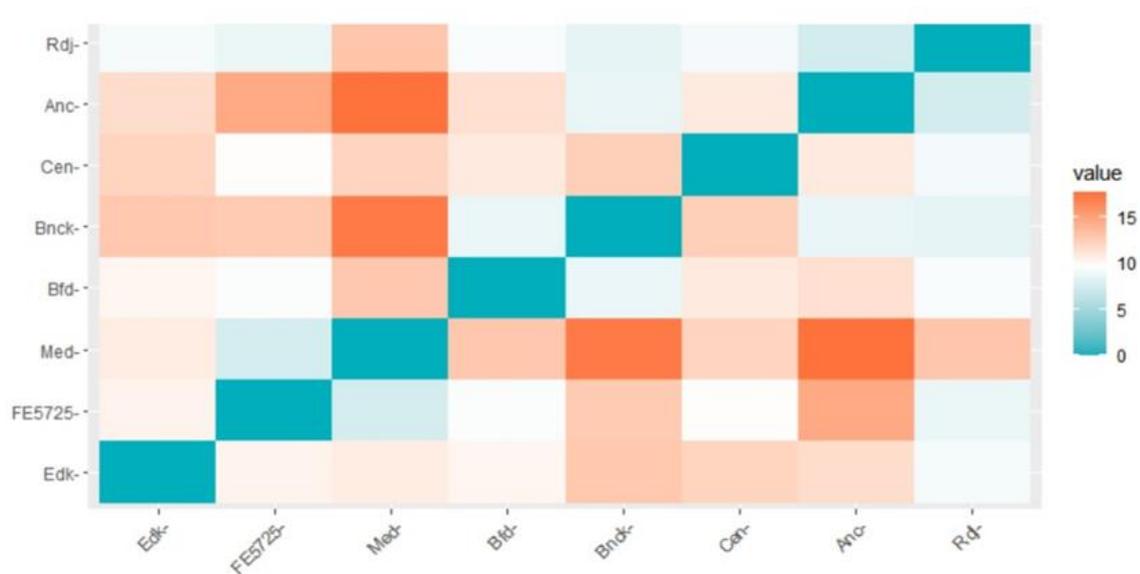


Figure 14 : Classement des génotypes en fonction de la variation des rendements de matière sèche des différentes coupes réalisées durant tout le cycle.

Dans la mesure où la sélection est pratiquée dans un environnement variable, où l'eau est un facteur limitant de la production de matière sèche, il est intéressant de connaître quelle est la saison qui détermine le plus la production chez les différents génotypes testés. Dans notre étude la saison la plus propice à des performances élevées de matière sèche était la saison fin-printanière (Figure 13), c'est pour cette raison qu'une deuxième classification des génotypes sur la base de la matière sèche accumulée durant cette saison nous semble indispensable. Elle a fait ressortir toujours quatre groupes contrastés qui sont Ruines de djemila (Rdj), Anouche

(Anc) et Centurion (Cen) appartenant au groupe 1, Beni embareck (Bnck) et Bone faid bouteldja (Bfd) au groupe 4, ces deux groupes sont les plus productifs avec des moyennes de production de l'ordre de 1,39 et 1,52 t/ ha respectivement, alors que les groupes 2 et 3 sont composés essentiellement de Medly, FE5725 et El adaiiek (Edk) respectivement, ces deux groupes sont les moins performants avec des moyennes de production de l'ordre de 0,62 et 0,82 t/ha respectivement (Figure 15).

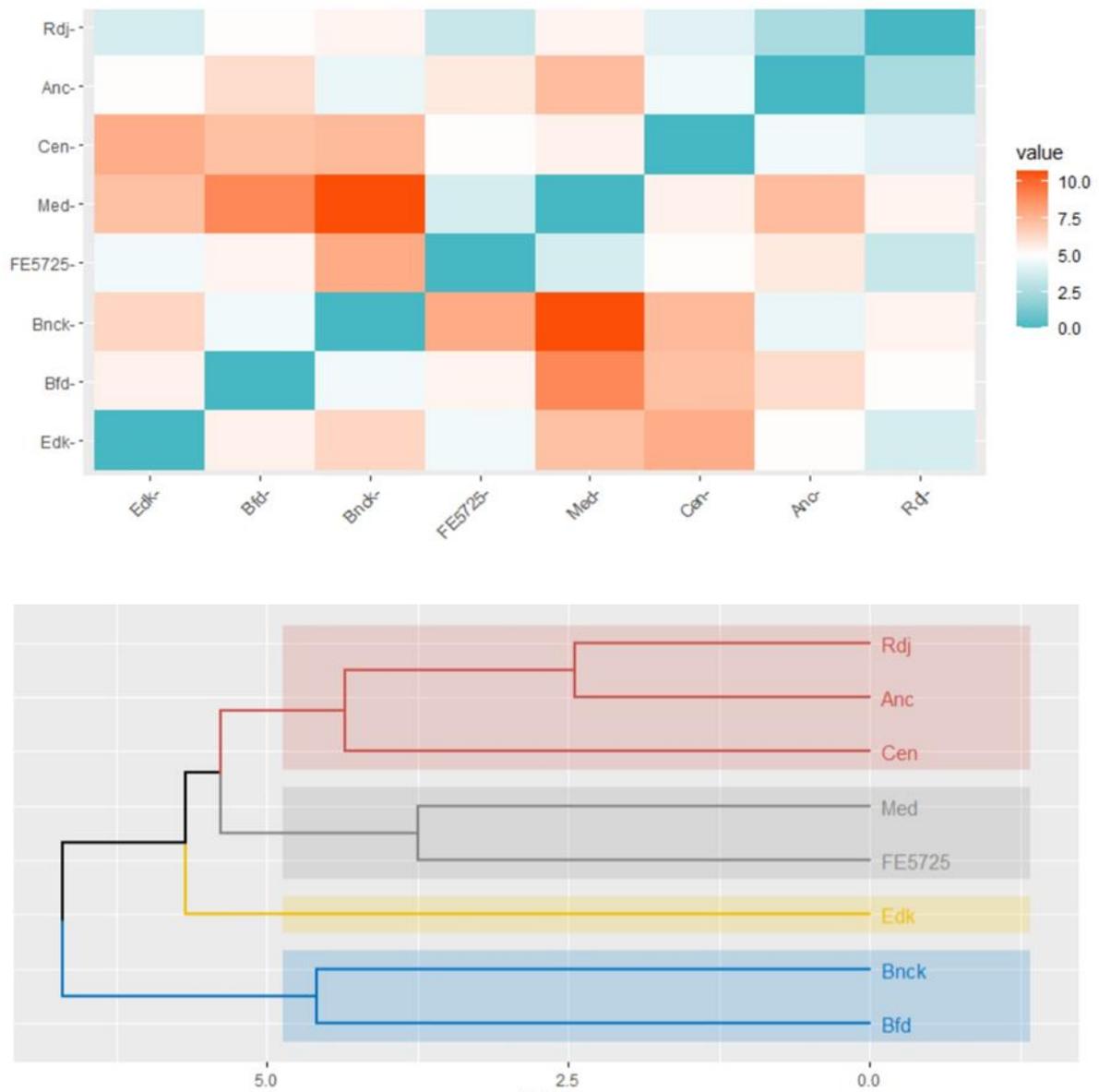


Figure 15: Classement des géotypes en fonction de la variation du rendement de matière sèche de la coupe fin-printanière.

Ces résultats ainsi que ceux présentés dans la figure 16 confirment la supériorité et la régularité que ce soit par saison ou par cycle de la production des populations de dactyle (à l'exception du génotype El adaiék (Edk) par rapport aux autres génotypes qui ont produits les rendements les plus faibles durant tout le cycle, il s'agit essentiellement du génotype Medly et FE5725. La population de dactyle Anouche est la plus performante en termes de production ; en effet, le total moyen de matière fraîche et sèche qu'elle a produit durant tout le cycle est de 5,32 t/ha et 1,78t/ha respectivement.

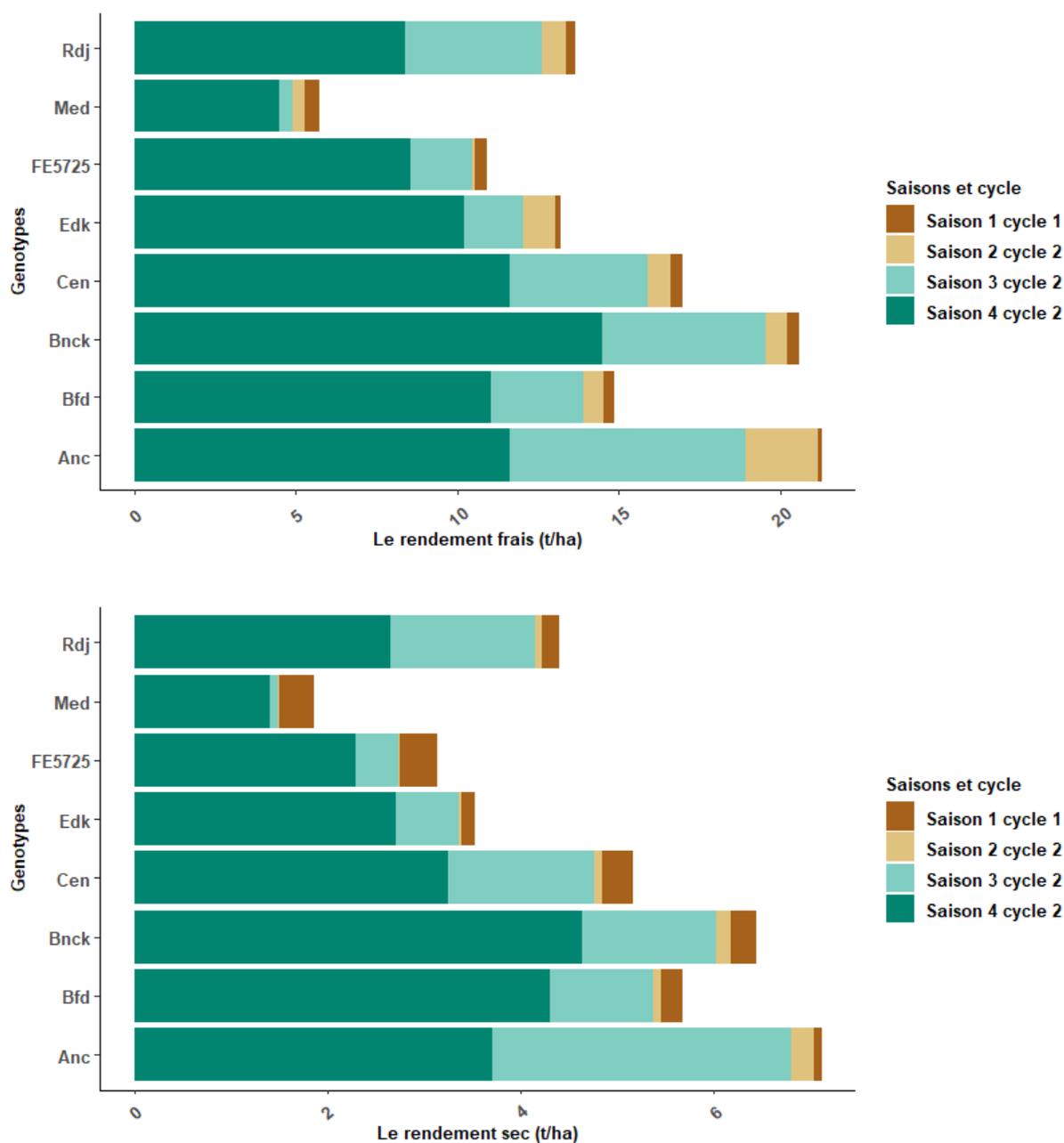


Figure 16 : Rendements frais et sec (t/ha) moyen produits au cours de tous les cycles

L'amélioration du rendement annuel total, de la persistance, de la résistance aux maladies et de l'allongement de la saison de pâturage sont des objectifs importants dans la plupart des programmes d'amélioration des cultures fourragères ; en effet, pour améliorer les variétés de graminées en termes de rendement et de qualité, la connaissance des traits génétiques est un critère important pour choisir une stratégie de sélection efficace (Jafari and Naseri, 2007).

O'Donovan (2001) mentionne que le rendement de matière sèche est affecté par la densité de la végétation. Cette dernière est généralement liée à la densité des talles montantes par unité de surface. Le rendement de matière sèche est affecté aussi par la structure de la végétation au moment de la coupe. Selon Gilliland *et al.*, (2002), la coupe d'une végétation plus jeune, n'ayant pas atteint le stade épiaison, produit un fourrage constitué essentiellement de limbes foliaires et de pseudo talles, alors que la coupe d'une végétation plus mature produit un fourrage plus grossier constitué de talles plus rigides et plus lignifiées et donc présentant un poids quantitatif plus important, sans pour autant être de meilleure qualité.

1.2 La hauteur de la végétation et la précocité à l'épiaison

Mesurée juste au moment de la coupe, la hauteur de la végétation n'a révélé aucune variation entre les génotypes en première année d'installation ($P = 0,2991$), par contre, la deuxième année d'expérimentation s'est caractérisée par une grande variation selon les saisons et les génotypes ; en effet, l'analyse de la variance durant cette année a indiqué un effet hautement significatif pour les génotypes ($P = 1,174e-06$) et la saison ($P < 2,2e-16$) et un effet significatif pour l'interaction génotype saisons ($P = 0,0281$). L'analyse pour les génotypes qui ont persisté durant les deux années d'expérimentation a indiqué un effet année hautement significatif ($P = 6,591e-05$) (Annexes 9, 10,11).

Durant l'année d'installation la hauteur de la végétation a varié de 13,51 cm pour la population FE5718 à 25,9 cm pour le cultivar Lutine (Figure 17) ; par contre, pour l'année suivante nous avons remarqué une grande variation entre les génotypes, où des hauteurs allant de 9,33 cm pour le cultivar Medly à 81,72 cm pour le cultivar Centurion ont été enregistrées. Nous avons aussi constaté une grande variation entre les saisons, où les plus faibles hauteurs sont mesurées à l'hiver avec une moyenne de 14,26 cm et les plus élevées sont mesurées à la fin du printemps avec une moyenne de 60,80 cm (Figure 18). De plus, les génotypes de fétuque élevée ont présenté des hauteurs moyennes plus hautes (23,31 cm) comparativement à celles des dactyles (18,26 cm).

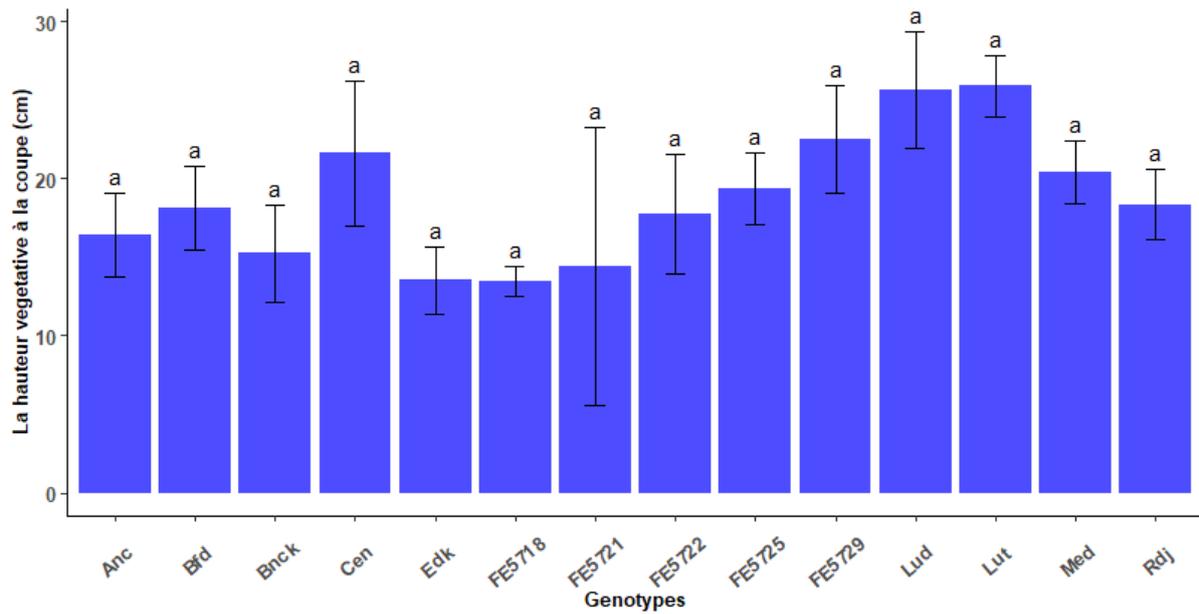


Figure 17 : Variation de la hauteur de la végétation des différents génotypes au moment de la coupe (cm) au cours de la première année d’expérimentation ($P_{\text{génotypes}} NS$).

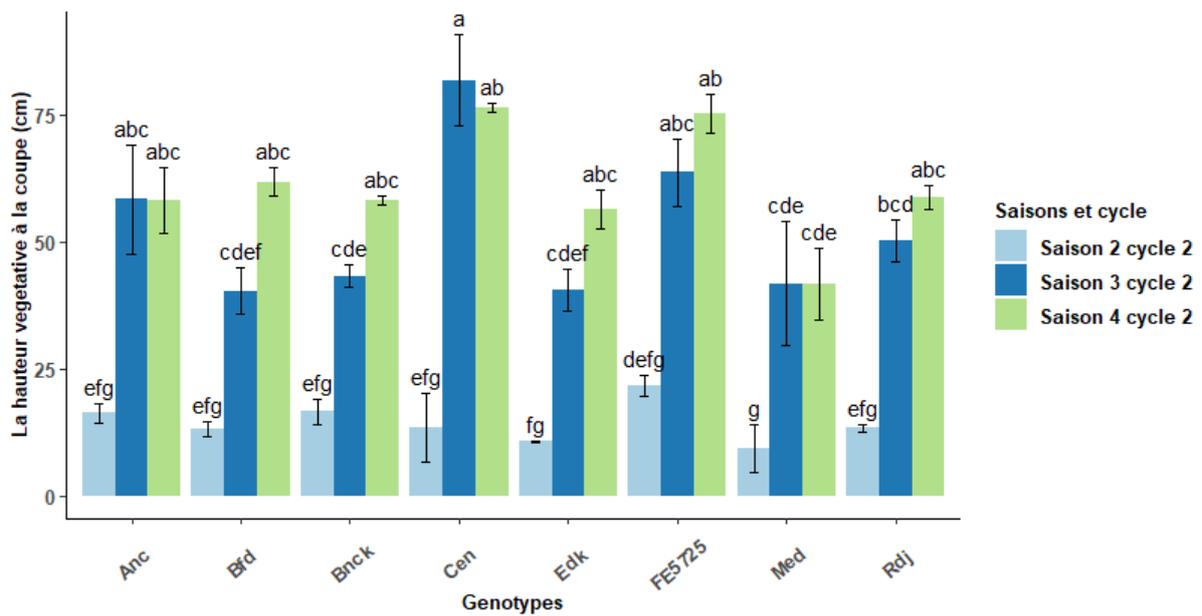


Figure 18 : Variation de la hauteur de la végétation des génotypes (cm) à différentes saisons au cours de la deuxième année d’expérimentation ($P_{\text{génotypes}} = 1,174e-06^{**}$; $P_{\text{saisons}} < 2,2e-16^{**}$; $P_{\text{génotypes} \times \text{saisons}} = 0,0281^*$).

Mesurées uniquement au cours de la saison de printemps, la durée au stade épiaison n'a révélé aucune variabilité entre génotypes ni pour l'année d'installation ni pour l'année suivante ($P > 0,05$) (Annexes 12,13).

Le nombre de jours écoulés du semis jusqu'à l'apparition de la première panicule a varié de 137 jours pour la population de dactyle Beni embareck (Bnck) à 170 jours pour la population de fétuque élevée FE5721 qui était tardive, où elle a présenté un écart de 23 jours par rapport à la moyenne générale (147 jours) (Figure 19). Durant cette année, certains génotypes n'ont pas épié, il s'agit de Ruine de djemila (Rdj), FE5722, FE5729, Medly (Med) et Ludac (Lud). La deuxième année par contre était une année à épiaison précoce avec une moyenne générale de 139 jours ; en effet, la durée d'épiaison a varié de 133 jours pour Medly à 148 jours pour Beni embareck (Bnck) qui était la plus tardive au cours de cette année, elle a enregistré un écart de 8 jours par rapport à la moyenne (Figure 19).

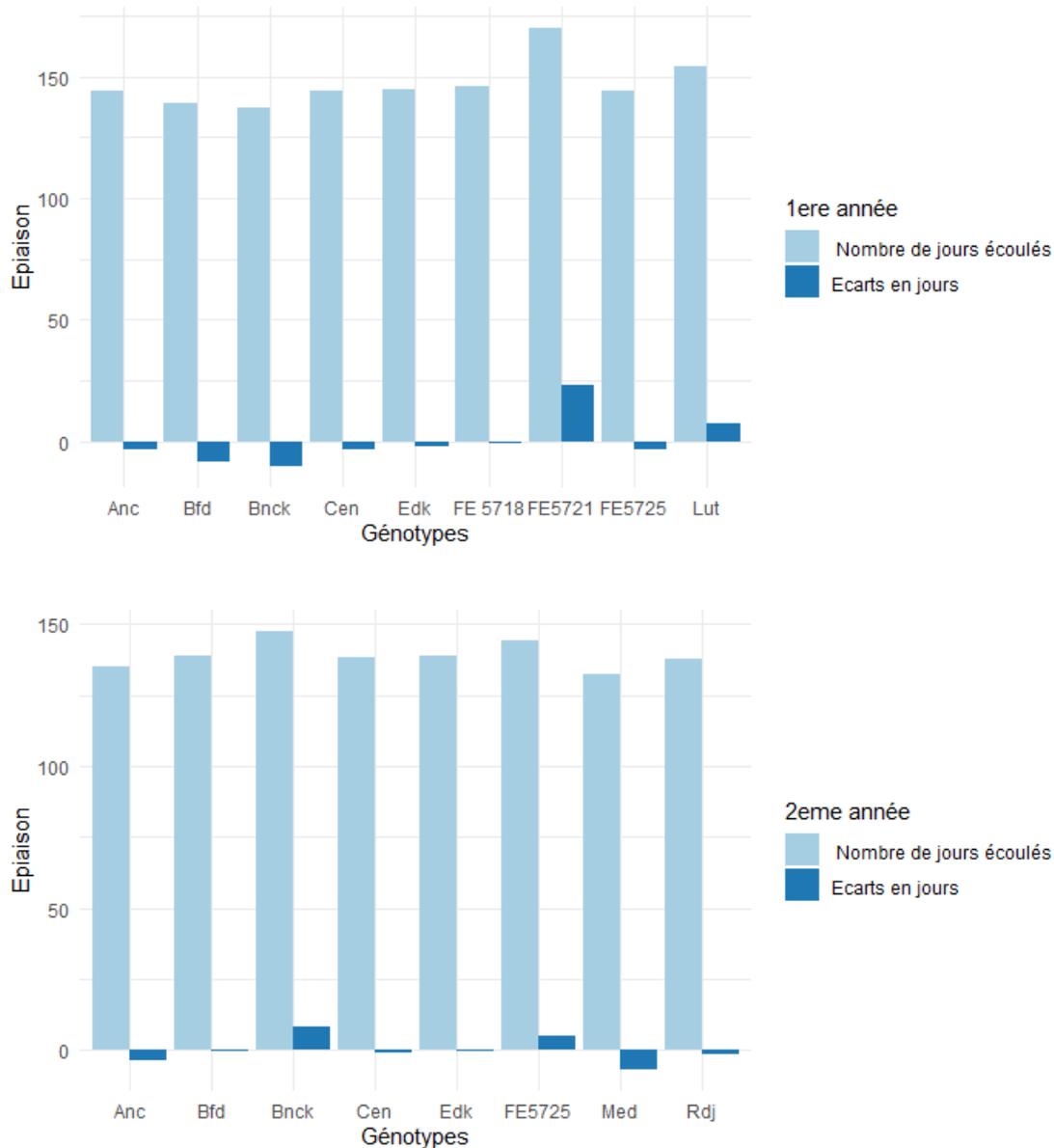


Figure 19 : Dates d’épiaison et écarts en jours (de la moyenne générale) des différents génotypes au cours de la première et la deuxième année d’expérimentation ($P_{\text{génotypes}}$ (1ère et 2ème années) *NS*).

La vitesse d’allongement des feuilles est importante quel que soit le climat et les types d’utilisation car elle est déterminante pour la production tant en culture pure qu’en association (Mousset, 2000). Nous avons constaté que l’élongation de la tige est lente au début de chaque cycle, où les différences entre les génotypes sont relativement faibles, elle devient par la suite plus élevée en fin de cycle où les génotypes de fétuque élevée expriment une meilleure réponse aux conditions environnementales que ceux de dactyles (Figure 18) qui présentent

une hauteur moyenne inférieure (37,24 cm) à celles relevées par Mousset (1992) qui obtint une moyenne de 42 cm sur des populations de dactyles de la sous espèce *hispanica*.

Selon Hazard *et al.*, (2001), une réduction de la taille pourrait être associée à une augmentation du nombre de talles par plante améliorant ainsi la persistance sous pâturage des plantes courtes et prostrées aux talles nombreuses. Dans la présente étude cela a été confirmé où nous avons remarqué que les populations de dactyles présentent une hauteur moyenne inférieure à celle des fétuques élevées mais leurs rendements secs accumulés durant tout le cycle sont beaucoup meilleurs (1,36 t/ha vs 0,45t/ha) (Figure 16).

La précocité à l'épiaison est aussi un critère important à prendre en considération dans tout programme de sélection, selon Shaimi *et al.* (2009), il existe une forte corrélation entre la précocité et la tolérance à la sécheresse chez les graminées, qui est due à la stratégie d'échappement aux fortes températures et donc ce critère peut être fortement utile dans les programmes de sélection spécialement pour les environnements sujets à la sécheresse (Pecetti *et al.*, 2011). Dans la présente étude nous avons noté que les populations de dactyle sont plus précoces (140 jours) que celles de fétuques élevées (151 jours), de tels résultats ont été confirmés par Ghesquière *et al.*, (2015) qui mentionnent que les populations d'origine méditerranéenne de dactyle se démarquent par une extrême précocité de leur épiaison au printemps par rapport aux fétuques, il est de même pour le cultivar de dactyle Medly qui a présenté une extrême précocité.

Selon Mefti (2012), les variétés précoces constituent un matériel végétal adapté pour les mélanges avec les légumineuses qui sont connues en générale pour leur floraison plus précoce par rapport aux graminées, et qui seront destinées à la production de foin. Par contre, les variétés à épiaison tardive sont plus indiquées pour la production du vert car cette dernière caractéristique fait que la période végétative est plus longue et donc la période d'exploitation est plus étalée, et peuvent servir ainsi pour l'ensilage. Olson *et al.*, (2005) indiquent que les variétés précoces sont plus adaptées à la fauche alors que les tardives le sont pour la pâture.

Pour le climat méditerranéen la précocité et le rythme de croissance sont les premiers critères à considérer, il faut donc des variétés à épiaison précoce à très précoce, ayant un maximum de croissance pendant la période non sèche (Mousset, 2000).

1.3 La persistance de la végétation (% de recouvrement)

L'analyse de la variance du taux de recouvrement du sol par la végétation (ou persistance) au cours de l'année d'installation indique l'existence d'un effet génotype significatif ($P = 0,01$) (Annexe 15). La figure 15 montre une variation remarquable entre les génotypes où le cultivar Centurion a enregistré la plus grande valeur avec un taux de recouvrement de 60,53 %, tandis que la population FE5718 a connu la plus faible persistance (7,32%).

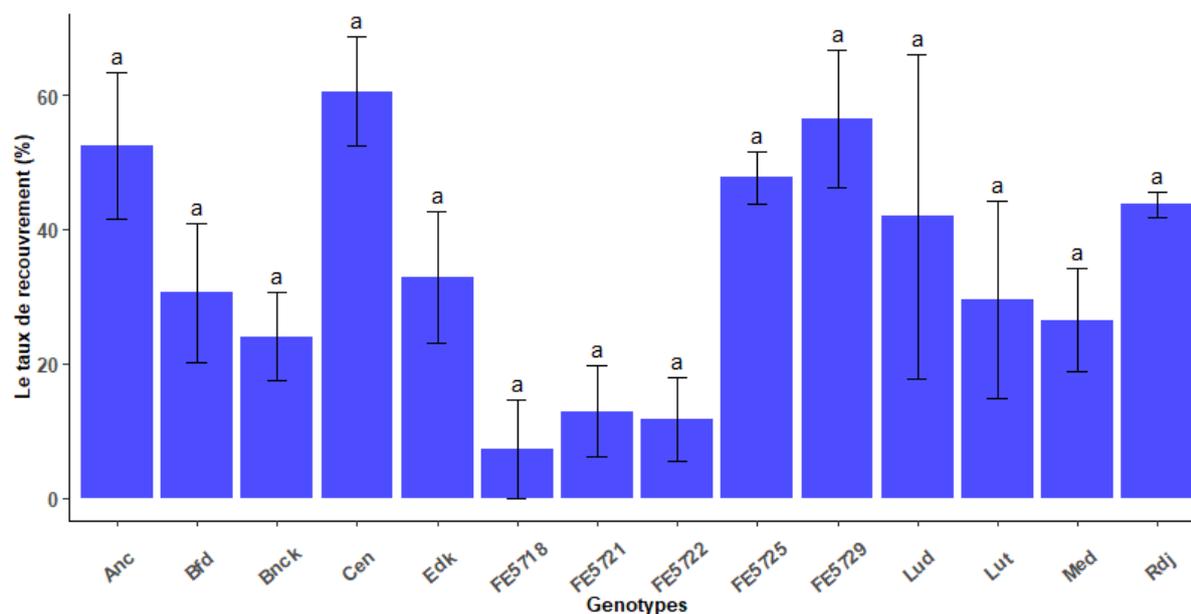


Figure 20 : Taux de recouvrement (%) des différents génotypes au cours de l'année d'installation ($P_{\text{génotypes}} = 0,01^*$).

En deuxième année d'expérimentation, nous avons noté une réduction du taux de recouvrement à 0% et donc une disparition totale de la végétation chez les génotypes suivants : FE5718, FE5721, FE5722, FE5729, Ludac et Lutine. Cette réduction a fait que l'analyse de la variance a révélé un effet hautement significatif pour les génotypes ($P = 0,0009$) et un effet significatif pour la saison ($P = 0,02$) (Annexe 16).

L'analyse des deux années d'expérimentation a fait ressortir des différences significatives à hautement significatives entre génotypes, années et interaction génotypes X années (Annexe 17).

La figure 21 montre qu'il y a une réduction du taux de recouvrement d'une saison à l'autre ; en effet, ce dernier a varié d'une moyenne de 34,14 % après la première fauche de l'année d'installation, à 31,06% après la fauche automnale, 27,58 % après la fauche

printanière pour atteindre une moyenne de 18,74 % après la fauche fin-printanière. La population Anouche (Anc) a présenté une meilleure persistance durant tout le cycle avec une moyenne de recouvrement de 46,73 % contrairement au cultivar Medly qui a enregistré le taux moyen le plus faible 17,90 %. Les génotypes El adaiek (Edk) et Centurion (Cen) ont connu des comportements très différents ; en effet, Edk a enregistré le taux de régression le plus faible (3,08 %), tandis que Centurion a connu la plus grande régression parmi tous les génotypes (47,61 %) (Figure 22).

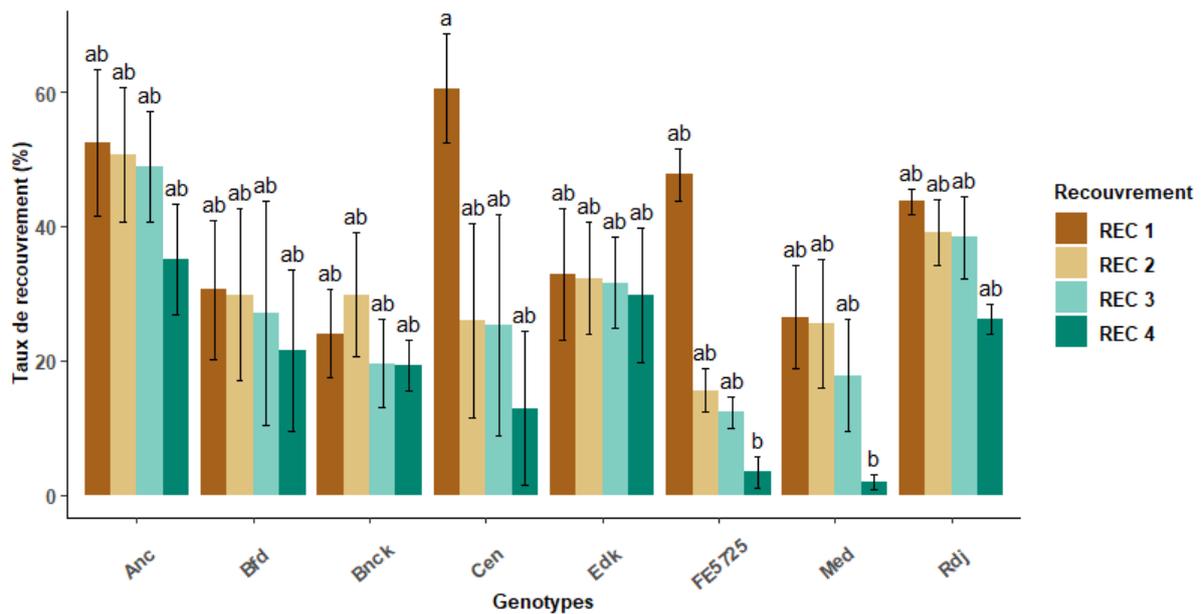


Figure 21 : Variation du taux de recouvrement (%) des génotypes au cours des différentes saisons des deux années d’expérimentation ($P_{\text{génotypes}} = 0,0009^{***}$; $P_{\text{saisons}} = 0,02^*$).

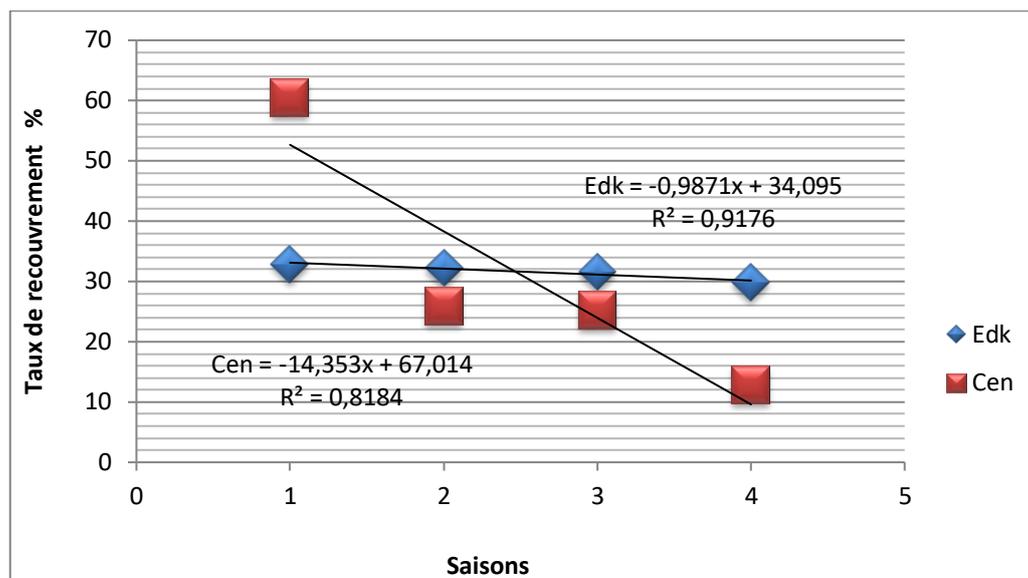


Figure 22 : Evolution du taux de recouvrement des géotypes à comportement extrême : la population de dactyle El adaiék (Edk) et le cultivar de fétuque élevée Centurion (Cen).

La capacité de reprise de végétation de la prairie après les dormances estivales est une caractéristique importante dans le domaine de sélection des graminées pérennes, car cette capacité permet à la prairie de persister. Pour estimer ce trait, le taux de recouvrement est utilisé pour évaluer la pérennité du couvert végétal installé.

Dans la présente étude nous avons constaté une disparition totale dès la deuxième année d'expérimentation de certains géotypes de fétuque élevée ainsi que le cultivar Lutine et Ludac cela peut être expliqué par leur origines d'où leur difficulté d'adaptation à l'environnement Algérien (Lelièvre *et al.*, 2008; Kallida *et al.*, 2016a). Le cultivar Medly était le moins persistant durant tout le cycle, ce résultat était déjà confirmé par Mefti (2012). Il en est de même pour le cultivar Centurion qui a présenté les taux de régression les plus élevés, ce qui n'est pas le cas dans l'étude de Mefti *et al.*, (2016) où il s'est présenté comme le cultivar le plus performant.

D'après le test de corrélation de Pearson entre le rendement sec accumulé et le taux de recouvrement, nous avons constaté une corrélation positive entre ces deux variables ($r = 0,62$, $P=0,1$) (Annexe 18). Ce résultat présente un intérêt agronomique spécialement pour les populations de dactyle qui montrent une bonne pérennité due à leur survie aux conditions

contraignantes et une reprise significative avec une accumulation de matière sèche importante dès que les pluies d'automne reviennent et donc ces populations constituent une matière prometteuse pour les changements climatiques et peuvent être utilisées dans les programmes de sélection.

1.4 L'efficacité d'utilisation de l'eau (EUE)

Dans la région méditerranéenne, les quantités d'eau disponibles pour l'agriculture ont tendance à diminuer et les températures ne cessent d'augmenter ; par conséquent, il est nécessaire de s'intéresser de plus près à l'efficacité d'utilisation des ressources qui sont déjà insuffisantes dès à présent et qui risquent de l'être plus dans un proche avenir (Mefti, 2012). Cela ne peut être atteint que par la sélection des génotypes qui maximisent l'utilisation de l'eau pour la production de biomasse surtout en période déficitaire en eau.

Les espèces fourragères pérennes présentent de nombreux avantages par rapport aux annuelles qui sont principalement les plus utilisées en Algérie. Elles utilisent les disponibilités du milieu au cours de la période favorable à la croissance et limitent toutes activités physiologiques au cours de la saison sèche en passant à l'état de dormance, ce qui leur permet de persister (Norton *et al.*, 2006) ; de plus, elles contribuent à réduire la dégradation des parcours et à accroître la durabilité des systèmes agricoles pluviaux et à améliorer la production fourragère (Lelievre and Volaire, 2009).

Au cours de notre expérimentation, l'EUE a été estimée uniquement en 2ème année d'étude, l'analyse pour cette mesure a révélé des différences très hautement significatives pour les saisons ($P < 2e-16$ ***), tandis que la différence n'a pas été significative ni pour les génotypes ni pour l'interaction génotypes X saisons (Annexe 19).

En effet, nous avons constaté une amélioration de l'EUE d'une saison à l'autre pour tous les génotypes, en passant d'une moyenne de 0,29 ($\text{kg ha}^{-1} \text{mm}^{-1}$) au cours de la saison 2 à 3,73 ($\text{kg ha}^{-1} \text{mm}^{-1}$) en saison 3 pour atteindre durant la saison 4 33,53 ($\text{kg ha}^{-1} \text{mm}^{-1}$).

La population de dactyle Bnck été la plus performante en terme d'EUE durant tout le cycle, elle a enregistré une moyenne de 18,22 ($\text{kg ha}^{-1} \text{mm}^{-1}$), elle a aussi donné la valeur maximale à la 4ème saison (49,88 $\text{kg ha}^{-1} \text{mm}^{-1}$) ce qui lui a permis d'être classée dans un

groupe à part (a) par contre le cultivar Medly a donné les plus faibles valeurs ($5,12 \text{ kg ha}^{-1} \text{ mm}^{-1}$) durant toutes les saisons (Figure 23).

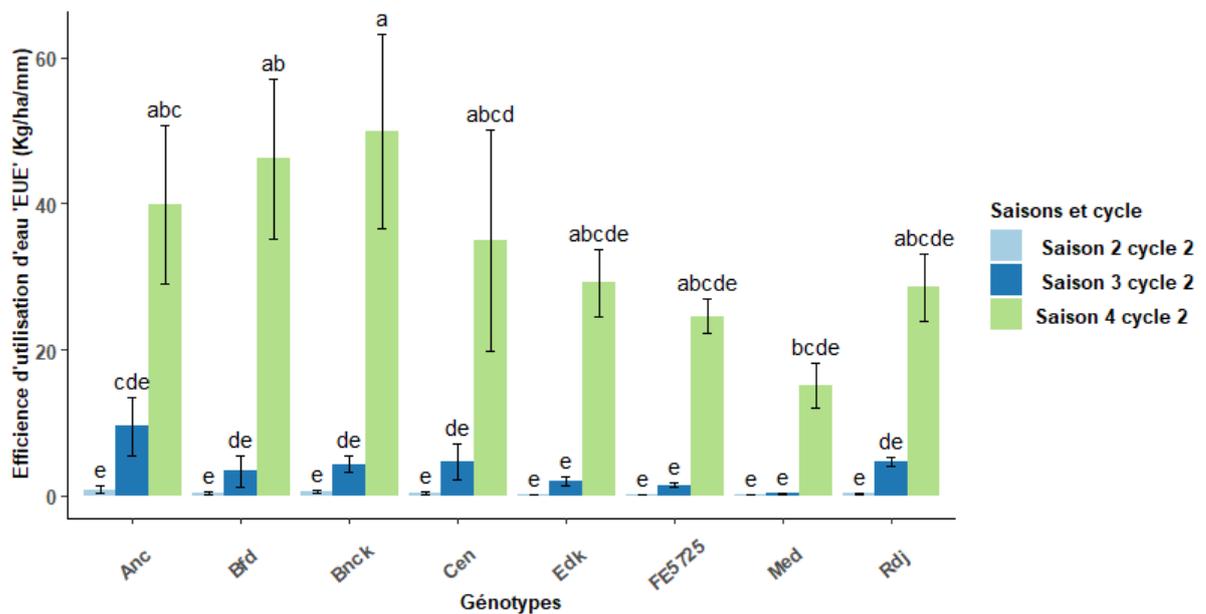


Figure 23 : L'EUE ($\text{kg ha}^{-1} \text{ mm}^{-1}$) pour produire de la matière sèche des différents géotypes au cours des différentes saisons de la 2ème année d'étude ($P_{\text{saisons}} < 2e-16$ ***).

Cette variabilité dans les valeurs de l'EUE sont dues essentiellement à des différences saisonnières du point de vue durée de cycle, période de croissance, quantités de pluies ainsi que moyennes des températures enregistrées. En effet, la durée du cycle varie de 43 jours pour la saison 4 (S 4) à 194 jours pour la saison une (S1), la moyenne des températures moyennes varie de $13,06$ à $20,78^\circ\text{C}$, celle de la moyenne des températures maximales varie de $19,4$ à $27,4^\circ\text{C}$ alors que la moyennes minimales varient de $7,53$ à $14,55^\circ\text{C}$. Le cumul de pluies enregistré par saison varie, quant à lui, de 102 mm à 354 mm (Tableau 3).

Selon le test de corrélation de Pearson, l'EUE est négativement corrélée avec la durée du cycle ($R_{\text{EUE-Durée}} = -0,94$, $P = 0,22$) et le cumul de précipitations enregistré pour chaque saison ($R_{\text{EUE-P}} = -1$, $P = 0,027$), ces résultats suggèrent que les saisons courtes et bien que moins arrosées se révèlent les plus efficaces en termes de valorisation de la ressource hydrique par les différents géotypes. Elle est aussi affectée par les conditions climatiques où nous avons constaté une corrélation positive avec les températures moyennes et minimales (R

$EUE-T_{moy} = 0,13, P = 0,92$; $R_{EUE-T_{min}} = 0,34, P = 0,78$), ainsi qu'avec le rendement en matières sèches accumulées ($R_{EUE-rdt\ sec} = 0,96, P = 0,18$).

Tableau 3 : Durée du cycle (D, jours), moyennes des températures moyennes (T_{moy} , °C), maximales (T_{max} , °C) et minimales (T_{min} , °C) saisonnières et cumul pluviométrique saisonnier (P, mm) enregistré durant la période d'expérimentation.

Années	Saisons	période	D (jours)	T moy (°C)	T max (°C)	T min (°C)	P (mm)
2017	S1	3/01 - 15/07	194	17,88	24,07	11,73	354
2017	S2	16 /07 - 30/12	168	20,78	27,4	14,55	311
2017- 2018	S3	31/12 - 24/04	115	13,06	19,4	7,53	299
2018	S4	25/04 - 7/06	43	18,46	23,22	13,92	102

Sous les conditions climatiques méditerranéennes, l'adaptation des plantes doit inclure impérativement la résistance aux températures élevées surtout en période estivale et l'amélioration du taux de croissance ainsi que de l'efficacité d'utilisation des précipitations durant la période pluviale qui est considérée selon Guo *et al.*, (2006) comme une caractéristique utile pour la sélection de variétés performantes et résilientes sous conditions semi- arides .

Dans la présente étude nous avons constaté que l'EUE est fortement corrélée avec la biomasse sèche accumulée, de tel résultat a été trouvé dans une étude faite sur des cultivars de fétuques élevées et de dactyle testés sous deux sites expérimentaux (France et Italie) où les accessions ont montré une corrélation très importante entre l'EUE saisonnière et totale avec la production de biomasse ainsi que de forte corrélation entre l'EUE et la reprise de végétation (recouvrement) en automne, ce qui suggère que l'EUE est essentiellement liée au potentiel de croissance plutôt qu'à l'absorption d'eau (Lelièvre *et al.*, 2011). Selon Xue *et al.*, (2006) ; Zhang *et al.*, (2010), une relation linéaire entre l'EUE et la production de céréales est largement reconnue sous condition déficitaire en eau et sous pratiques agricoles contrastées.

La durée du cycle a aussi affecté l'EUE, où une forte corrélation négative a été révélée ; en effet, pour les céréales et les légumineuses, la réduction de la période végétative a été

prouvée d'être utile pour l'amélioration de l'EUE. Pour ces espèces, une phénologie précoce avec une production de biomasse sèche élevée ont permis une meilleure utilisation de l'eau en phase post-florale et une plus grande répartition de la matière sèche en grains et donc une EUE élevée pour la production de grains (Siddique *et al.*, 2001; Zhang *et al.*, 2010).

L'amélioration de l'EUE est devenue primordiale pour les espèces surtout avec les changements climatiques actuelles, pour atteindre de tel objectif, il sera nécessaire d'identifier des génotypes qui maximisent l'utilisation de l'eau pour la production de biomasse sous températures et conditions déficitaires en eau. Récemment, plusieurs études ont été faites dans ce sens, à titre d'exemple l'étude faite par Nagore *et al.*, (2017) a montré que les hybrides de maïs actuels présentent une meilleure EUE qui est de l'ordre de $25,1 \text{ kg ha}^{-1} \text{ mm}^{-1}$ par rapport aux anciens hybrides qui montrent une EUE de l'ordre de $23,1 \text{ kg ha}^{-1} \text{ mm}^{-1}$. Dans le présent travail nous avons noté que les populations de dactyle présentent l'intérêt de maximiser le profit de l'utilisation des ressources en eau en produisant plus de biomasse sèche par rapport aux autres génotypes, ce qui expliquerait l'intérêt de leur sélection.

L'amélioration de L'EUE par les plantes peut aussi être envisagée par l'adaptation des pratiques agricoles qui réduisent l'évaporation d'eau par les sols et détournent l'utilisation d'eau par les cultures pour plus de transpiration afin de limiter l'exposition des plantes aux conditions stressantes, et cela peut se faire par la gestion des résidus de cultures, le paillage, la réduction des espacements entre les plants surtout pour les environnements où l'eau est un facteur limitant ou sous conditions pluviales et aussi par les irrigations (Hatfield and Dold, 2019).

2 Classification des génotypes et Analyse en composante principale (ACP)

La classification des individus par la méthode UPGMA «Unweighted pair group method with arithmetic mean» basée sur les distances euclidiennes fait ressortir deux groupes majeurs constitués chacun par deux sous-groupes (Figure 24, Annexe20).

1. Le premier sous-groupe est constitué du cultivar de dactyle Medly (Med).
2. Le deuxième sous-groupe renferme la population de fétuque élevée FE5725.

3. Le troisième sous-groupe est composé des populations de dactyles suivantes : Bone faid bouteldja (Bfd), Ruines de djemila (Rdj), El adaiak (Edk), Anouche (Anc) et le cultivar de féтуque élevée Centurion (Cen).
4. Le quatrième sous-groupe inclu la population de dactyle Beni embareck (Bnck).

L'analyse en composantes principales (ACP) a aussi confirmé les résultats de la classification UPGMA où les génotypes ont été classés en 4 clusters, elle a montré que les deux premiers axes expriment 72,61 % de la variabilité totale, soit 46,45 % pour le 1^{er} axe et 26,16 % pour le 2^{eme}. L'axe 1 est corrélé positivement avec les variables suivantes : Rendements frais et sec, Hauteur végétative à la coupe (HVC), Taux de recouvrement (REC), Epiaison ; alors qu'il est négativement corrélé avec l'efficacité d'utilisation de l'eau (EUE). Quant à l'axe 2, il est corrélé négativement avec le taux de recouvrement et positivement avec le reste de variables (Figure 25).

L'axe 1 oppose des individus tels que Bnck, Bfd, Cen (à droite du graphe, caractérisés par une coordonnée positive sur l'axe) à des individus comme Med, FE5725 et Edk (à gauche du graphe, caractérisés par une coordonnée fortement négative sur l'axe). L'axe 2 lui-même oppose les individus FE5725, Bnck et Bfd (qui ont des coordonnées positives sur l'axe) à des individus comme Med, Edk, Rdj (qui sont caractérisés par une coordonnée fortement négative sur l'axe).

Le groupe 1 auquel le cultivar de dactyle Medly (Med) appartient est caractérisé par :

- ✓ Des rendements frais et sec accumulés très faibles, une hauteur végétative à la coupe réduite, de faibles valeurs en efficacité d'utilisation d'eau et une épiaison précoce.

Le groupe 2 auquel la population FE5725 appartient partage aussi des faibles rendements accumulés.

Le groupe 3 auquel la population Bnck appartient est caractérisé par une meilleure efficacité d'utilisation des précipitations durant toutes les saisons et par une épiaison tardive.

Le groupe 4 auquel les génotypes Cen, Bfd, Rdj, Edk, Anc appartiennent partage :

- ✓ De fortes accumulation de matières fraîches et sèches, une hauteur végétative à la coupe élevée surtout pour le cultivar Centurion et un taux de recouvrement

important surtout pour la population Anouche (Anc) (à l'exception de la population Edk).

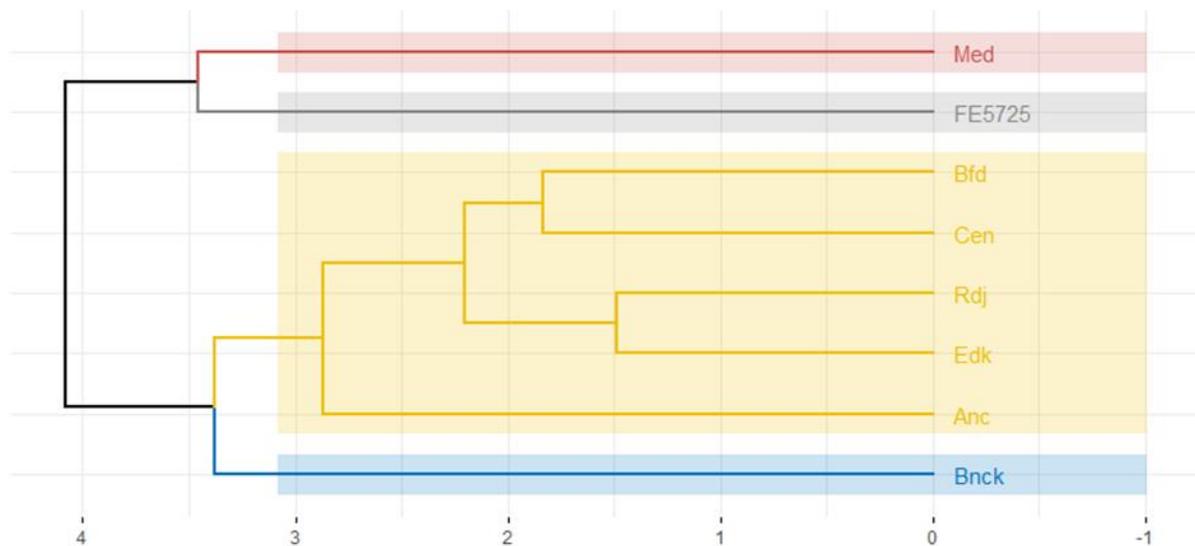
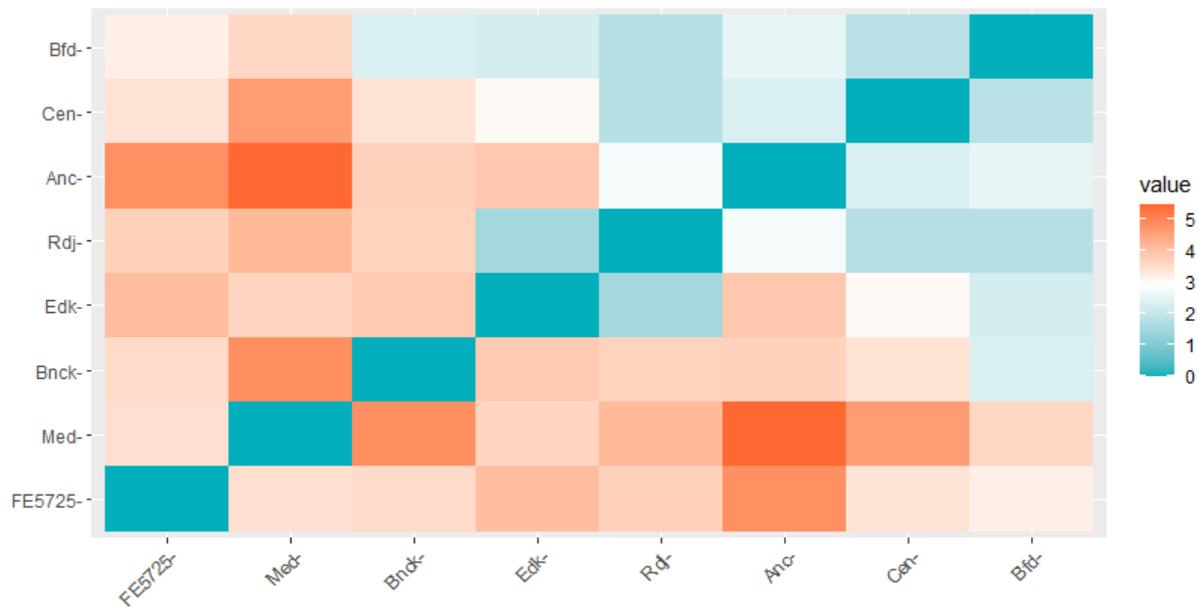


Figure 24 : Classification des génotypes de dactyle et de féтуque élevée selon la méthode UPGMA.

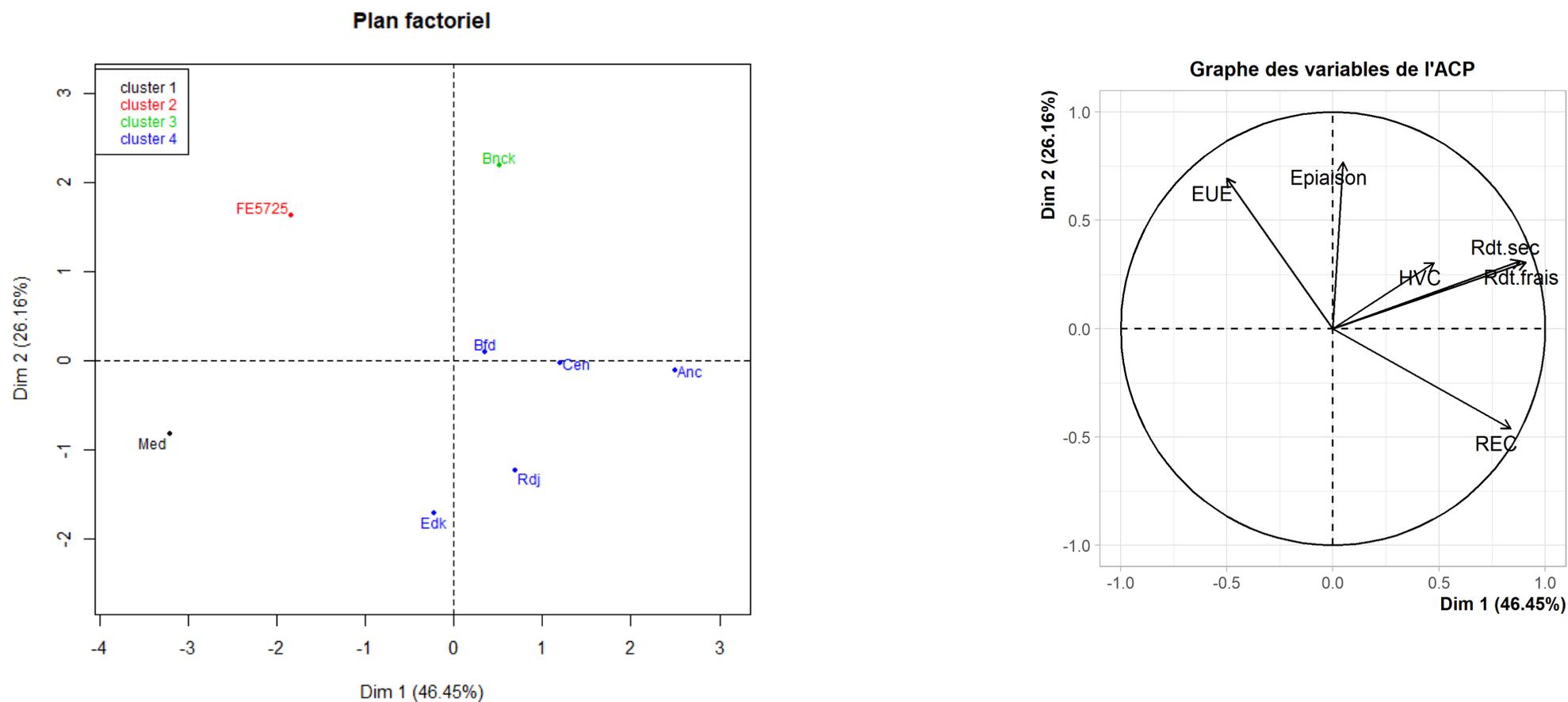


Figure 25 : Analyse en composantes principales (ACP) des variables et des génotypes de dactyle et de fétuques élevées.

Conclusion

Dans le bassin méditerranéen le développement des cultivars de graminées pérennes est limité alors que certains pays tel que l'Australie a collecté et utilisé beaucoup plus de matériels génétiques d'origines méditerranéennes plus que font les pays méditerranéens eux même (Lelievre and Volaire, 2009).

En Algérie la richesse des ressources génétiques locales d'espèces fourragères est malheureusement mal exploitée. A partir des résultats obtenus dans ce chapitre, il est à noter que les possibilités de relancer des programmes de production fourragère existent réellement dans le pays, si seulement nous voulons œuvrer pour la diminution des exportations massives de lait et de poudre de lait ainsi que de semences fourragères et d'encourager les agriculteurs à exploiter raisonnablement cette richesse génétique locale qui présente une grande importance du point de vue d'adaptation aux conditions du milieu de production et de pérennité. Cependant la réussite de la réhabilitation de la production des fourrages ne peut être atteinte que par une stratégie nationale claire en matière de production de semences, de conduite des cultures fourragères, de gestion de la jachère et enfin, de l'aménagement et l'utilisation des espaces pastoraux en milieu forestier et steppique (Abdelguerfi *et al.*, 2008).

L'évaluation agronomique de quelques populations algériennes de dactyle et de fétuque élevée présentées dans ce chapitre nous a permis de constater qu'il existe une large gamme de choix du matériel végétal qui dépend essentiellement de l'objectif que l'agriculteur veut atteindre.

La population de dactyle Anouche (Anc) semble être intéressante pour l'établissement des prairies temporaires vue qu'elle présente une meilleure production fourragère pour tous les cycles ainsi que pour la saison fin printanière, il en est de même pour le reste des populations de dactyle.

La population de dactyle Beni embareck présente aussi un intérêt vue qu'elle offre une souplesse d'exploitation importante grâce à son épiaison tardive et à son cycle végétatif long, donc elle est fortement recommandée pour la pâture. C'est aussi une population intéressante en terme d'efficience d'utilisation des ressources hydriques pour la production de biomasse où elle a présenté les meilleurs performances.

Dans le cas où la persistance du couvert végétal, pour des raisons de protection du sol de l'érosion, est un critère de sélection, la population de dactyle El adaiak (Edk) est fortement recommandée vue qu'elle présente un pourcentage de régression du taux de recouvrement le moins important durant cette étude comparativement aux autres génotypes. C'est une population qui présente une végétation pérenne de longue durée ce qui est aussi souvent nécessaire dans les systèmes extensifs agricoles de l'Algérie ; toutefois, la confirmation de ce trait nécessite d'autres essais dans différents milieux de production.

La sélection des écotypes d'origine méditerranéenne ou nord-africaine pourrait améliorer considérablement la pérennité comparativement aux matériels génétiques d'origine tempérée (Ferret, 1975; Jaritz, 1994), car le matériel d'origine tempérée présente une pérennité très faible (taux de survie <10 %) en conditions de sécheresses estivales intenses et répétées, alors que les génotypes méditerranéens survivent en moyenne entre 60 et 80 % (Volaire *et al.*, 2013). Dans la présente étude cela a été prouvé où le cultivar Ludac d'origine tempérée a disparu complètement lors de la 2^{ème} année d'expérimentation.

Les deux cultivars Medly, sélectionné pour les zones subhumides et Centurion, typiquement méditerranéen (Lelievre and Volaire, 2009) ont malheureusement présenté des comportements non pertinents en termes de production et de pérennité dans la présente étude ce qui n'encourage pas leur choix sous les conditions climatiques du sub-humide algérien

Les populations algériennes analysées dans ce chapitre montrent une variabilité naturelle très importante et présentent l'intérêt d'être poursuivis par d'autres évaluation afin de comprendre et de caractériser leur comportement, chose que nous nous allons voir dans les autres chapitres de cette thèse.

Chapitre III

Etude du comportement et de la tolérance à la sécheresse de quelques génotypes de dactyle (*Dactylis glomerata* L.) et de fétuque élevée (*Festuca arundinacea* Schreb)

Introduction

Les prairies couvrent 70% de la surface agricole du monde et soutiennent des systèmes de production qui contribuent aux moyens de subsistance de plus de 800 millions de personnes dans le monde (Norton *et al.*, 2016). Cependant, la stabilité de ces prairies et la durabilité de l'agriculture pastorale qui en dépend seront menacées par le changement climatique mondial (Tubiello *et al.*, 2008).

Dans la région méditerranéenne, le climat est prévu de devenir plus chaud et plus sec, en particulier en été (Giorgi and Lionello, 2008; Giannakopoulos *et al.*, 2009; Lehtonen *et al.*, 2014), et les hivers sont également prévus de se réchauffer, Les vagues de chaleur et les sécheresses sévères qui en résultent aggravent le niveau de stress des prairies (Ergon *et al.*, 2018).

En Algérie le système fourrager est caractérisé par la faible présence des prairies permanentes qui sont dépendantes de l'irrigation et lorsque les précipitations se font rares et irrégulières, comme c'est souvent le cas sous conditions semi-arides, elles se dessèchent progressivement sous l'effet des sécheresses estivales qui caractérisent le pays. Leur régénération donc devient onéreuse en l'absence de matériel végétal approprié et résilient vis-à-vis des stress abiotiques (Anderson *et al.*, 1999; Casler and Vogel, 1999; Pecetti *et al.*, 2011).

Une des voies possibles pour améliorer la production fourragère en Algérie consiste à utiliser des variétés et géotypes qui s'adaptent aux périodes de manque d'eau et qui valorisent l'eau en produisant plus de biomasse par unité d'eau apportée (Hayes *et al.*, 2010).

Les espèces fourragères pérennes présentent un intérêt croissant par rapport aux espèces annuelles (Lelièvre *et al.*, 2008; Norton *et al.*, 2009) car elles offrent une meilleure optimisation de l'eau grâce à leur repousse plus rapide après exploitation à la fin du printemps. certaines espèces comme les graminées pérennes adoptent le mécanisme de dormance estivale qui leur permettent de survivre après les sécheresses estivales (Shaimi *et al.*, 2009b).

C'est dans ce contexte que s'inscrit l'objectif de ce chapitre et qui a pour but, d'évaluer le comportement des populations algériennes de dactyle et de féтуque élevée ainsi que des cultivars méditerranéens face au déficit hydrique, et d'étudier l'effet du stress sur les aspects morphologiques, physiologiques et biochimiques de ces génotypes afin de sélectionner un matériel végétal local qui s'adapte aux variations climatiques du milieu de production.

Matériels et méthodes

1 Site experimental

L'essai s'est déroulé au niveau de la station expérimentale de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique d'El Harrach (Alger), dont les caractéristiques géographiques sont les suivantes : latitude $36^{\circ} 43'$ Nord ; longitude $3^{\circ} 8'$ Est ; à 32 m d'altitude, au sein d'une serre vitrée d'une superficie de 24 m² afin d'éviter toute pénétration de pluies et de contrôler les apports en eau.

L'expérimentation a duré 6 mois, du mois de Décembre jusqu'au mois de Juillet et cela pour les deux campagnes agricoles : 2016/2017 et 2017/2018.



Figure 26 : Photos où l'expérimentation s'est déroulée

2 Matériel végétal

Le matériel végétal étudié dans ce chapitre est le même que celui du chapitre précédent, seulement en deuxième année d'expérimentation (2017/2018), nous avons éliminé certaines populations à cause de l'absence de semences, il s'agit de Beni-embareck, FE5722, FE5715 (Voir chapitre II page 39 pour plus de détails).

3 Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental adopté pour cette étude est un dispositif en split plot comprenant 2 régimes hydriques ; un premier, conduit à l'ETM et l'autre sous stress sévère correspondant à un taux de tarissement de 80 % de la capacité au champ. Chaque régime hydrique a été répété 3 fois. La répartition des génotypes au sein de chaque bloc a été faite d'une façon aléatoire (Figure 27).

Bloc 3

FE5721	FE5730	FE5718
Edk	PL	PL
Bnck	Rdj	FE5715
FE5719	Anc	FE5729
FE5722	Cen	Bfd
Med	Lud	FE5716
FE5725	Lut	

FE5721	FE5730	FE5718
Edk	PL	PL
Bnck	Rdj	FE5715
FE5719	Anc	FE5729
FE5722	Cen	Bfd
Med	Lud	FE5716
FE5725	Lut	

Bloc 2

Cen	FE5722	FE5725
FE5718	FE5715	PL
PL	Rdj	Med
Bnck	Bfd	FE5721
FE5716	Lud	Adk
FE5730	Lut	FE5729
FE5719	Anc	

Cen	FE5722	FE5725
FE5718	FE5715	PL
PL	Rdj	Med
Bnck	Bfd	FE5721
FE5716	Lud	Adk
FE5730	Lut	FE5729
FE5719	Anc	

Bloc 1

Anc	FE5722	FE5718
Lut	Cen	PL
PL	FE5715	FE5716
FE5729	FE5719	Adk
FE5730	FE5721	Rdj
Med	FE5725	Lud
Bnck	Bfd	

Anc	FE5722	FE5718
Lut	Cen	PL
PL	FE5715	FE5716
FE5729	FE5719	Adk
FE5730	FE5721	Rdj
Med	FE5725	Lud
Bnck	Bfd	

Figure 27 : Dispositif expérimental opté pour l'expérimentation

- Traitements conduits à l'ETM
- Traitements sous stress hydrique
- Pots lysimétrique

- Populations éliminées au cours de la 2^{ème} année d'expérimentation.
- Populations n'ayant pas germé

4 Gestion de l'essai

La préparation des pots a commencée par le dépôt d'une couche de gravier au fond de chaque pot de 14 L afin de faciliter le drainage de l'eau d'irrigation (Figure 28A) ; ensuite, un remplissage avec un substrat préalablement préparé a été fait. Le substrat utilisé est un mélange de 1/3 de terre tamisée et stérilisée à l'étuve pendant 48h à 120 °C, un 1/3 de terreau et un 1/3 de sable de rivière (Figure28 B).

Le semis des graines a été fait au mois de décembre pour les deux campagnes (2016 - 2017 et 2017-2018) à raison de 3 poquets par pot, à une profondeur superficielle qui ne dépasse pas les 2 cm (Figure28 C) ; ensuite, l'ensemble des pots ont été arrosés et recouverts avec un film plastique noir afin de fournir aux graines une humidité, obscurité, et température nécessaires pour une germination homogène (Figure 28D).

Après la levée de toutes les plantes, une opération de démariage a été effectuée au stade 3 feuilles, sur l'ensemble des pots. Les plants chétifs et anormaux ont été éliminés de façon à ce qu'il reste uniquement 3 plants/ pot qui feront l'objet de notre étude (Figure 28E).

En fin de cycle, la récolte de plants a eu lieu, les plants ont été fauchés à 5 cm. Les parties aériennes et celles souterraines ont été séparées, les racines ont été lavées soigneusement et séchées avec du papier absorbant. Par la suite, les paramètres en relation avec la biomasse (aérienne et racinaire) ont été réalisés (Figure 28F).



Figure 28 : Différentes opérations réalisées au cours de l'étude expérimentale

5 Entretien de l'essai

Au fur et à mesure que les adventices apparaissent, elles étaient éliminées manuellement. Des apports d'engrais azoté sous forme d'urée 46 % et de fertilisation foliaire ont été appliqués afin de maintenir une meilleure croissance végétative, ainsi que des traitements phytosanitaires ont été appliqués tels que le fongicide Occidor (1ml / L) et l'insecticide phychlorex (2 ml / L) pour toute lutte contre les champignons, fusariose en particulier et les pucerons.

6 Estimation des besoins hydriques

Avant l'application du stress hydrique, nous avons procédé au calcul de la capacité de rétention du substrat en suivant le protocole ci-après :

Des échantillons du substrat sont mis dans 3 bassines à fond perforé, et irrigués jusqu'à ce qu'on remarque la sortie de la première goutte d'eau, n'étant pas retenue par les forces capillaires, c'est l'eau gravitaire. On laisse les substrats se ressuyer pendant 24 heures, le temps nécessaire pour se débarrasser de l'excès d'eau, et on fait des pesées pour connaître le poids frais (Pf) des échantillons. Les bassines sont ensuite mises dans l'étuve à une température de 70°C pendant 48 heures pour obtenir le poids sec (Ps).

La capacité de rétention (CR) du substrat est calculée selon la formule suivante :

$$\text{CR \%} = (\text{Pf} - \text{Ps}) / \text{Ps} * 100$$

Avec :

Pf: Poids frais (poids après 24 h de drainage)

Ps: Poids sec (poids après passage à l'étuve à 70°C pendant 48h).

Nos échantillons révèlent une CR moyenne de 39,39 %.

7 Application du stress hydrique

Le stress hydrique a été appliqué dès que 50% des géotypes sont arrivés au stade épiaison dans les trois blocs, le choix de ce stade phénologique repose sur l'importance de ce stade vis-à-vis des besoins hydriques et aussi sur les dégâts qui pourraient provoquer par le stress hydrique en phase post-florale d'où l'intérêt d'une évaluation des géotypes étudiés aux conditions contraignantes du milieu.

Le stress hydrique a été appliqué 2 fois, le premier cycle qui a duré 15 jours a été interrompu par une journée de rétablissement avec une irrigation à la capacité maximale de rétention, avant de lancer le deuxième cycle de stress qui a duré respectivement 15 et 17 jours en première et en deuxième année d'expérimentation. Les durées des deux cycles (15 et 17 jours) se sont les durées qui ont permis d'atteindre le taux de tarissement de 80% de la CC. (Figure 29).

Nous avons opté pour deux régimes hydriques :

- Traitement sans déficit hydrique : où les plants, ne manquent d'eau en aucun moment de leurs cycles, ils sont conduits en régime d'évapotranspiration maximale (ETM). Les pots sont irrigués jusqu'à la capacité au champ (CC) à chaque fois que le poids initial (Pi) diminue.

Remarque : le P_i est le poids du pot lysimétrique à la CC c'est-à-dire après 24h de drainage ; dans notre cas, on a pris la moyenne des 12 pots lysimétriques.

- Traitement avec déficit hydrique sévère : Les plants dans ce cas par contre, sont soumis à un stress hydrique sévère (SS) par l'arrêt de l'irrigation jusqu'à ce que les plants arrivent à un taux de tarissement de 80 % de la CC. Les pots sont donc ré irrigués, dès que le seuil de 80 % de la CC est atteint.

Pour la détermination des taux de tarissement, le principe consiste à peser régulièrement les pots en stress jusqu'à l'obtention du poids final (P_{fi}) correspondant au taux de tarissement voulu (80%) de la CC.

Sachant que : $P_i = P_s + P_{\text{eau}}$

Avec :

- P_i : poids initial
- P_s : Poids sec du sol du pot (Kg)
- P_{eau} : Poids de l'eau (Kg)

Soit $P_{\text{eau}} = 3.82$ kg (à 100% de la CC, le pot contient 3.82 kg d'eau).

P_s à 80% de la CC, $P_s = 6.76$ kg

P_{fi} : poids final à 80% de la capacité au champ.



Figure 29 : photo personnelle prise après application du stress hydrique

8 Notations réalisées

8.1 Paramètres morpho-phénologiques

8.1.1 La surface foliaire

La surface moyenne de 10 feuilles (SF10) était déduite à partir du produit des longueurs (L) et largeur (l) d'un échantillon de 10 feuilles choisies au hasard pour chaque plant. Elle a été prise le jour d'application du stress hydrique et 11 jours après.

$$SF10 \text{ (cm}^2\text{)} = 0,607 * (L * l) \text{ avec :}$$

- L : largeur moyenne des feuilles en cm.
- l : longueur moyenne des feuilles en cm.
- 0.067 : coefficient de régression de la surface estimée à partir du papier grammage sur celle déduite par le produit (Lxl) (Mefti, 2012).

8.1.2 La biomasse aérienne

À la fin de l'expérimentation tous les plants ont été fauchés à 5 cm du sol, la récolte de chaque génotype a été mise dans un sac en papier étiqueté et la matière sèche a été déterminée après passage à l'étuve à 70°C pendant 48 h.

8.1.3 La biomasse racinaire

Après la récolte, les racines des 3 plants de chaque génotype ont été récupérer, lavées sous robinet pour enlever tout substrat, ensuite le poids sec a été estimé comme celui de la biomasse aérienne. Au cours de la campagne 2016/2017 la biomasse racinaire n'a pas été estimée.

8.2 Paramètres biochimiques et physiologiques

À la fin de chaque cycle un échantillonnage de feuilles a eu lieu afin de procéder aux analyses suivantes :

- Dosage des pigments chlorophylliens (Arnon, 1949), de la proline (Troll and Lindsley, 1955) ainsi que des sucres solubles totaux (Dubois *et al.*, 1956) (Annexes 22,23,24).
- Détermination de la teneur relative en eau (Dib and Monneveux, 1992) et de la stabilité membranaire (Blum and Ebercon, 1981) (Annexes 25,26).

Les différentes analyses biochimiques et physiologiques ont été réalisées au niveau du « laboratoire de physiologie des stress abiotiques » au niveau du département « productions végétales ».

9 Analyses statistiques

Afin de déterminer l'effet des traitements appliqués sur les différents paramètres étudiés, les résultats obtenus ont fait l'objet d'une analyse de la variance (ANOVA) à deux critères de classification (génotypes /régimes hydriques) et parfois trois critères ou plus (génotypes, régimes hydriques, cycles et années), et d'une comparaison des moyennes à l'aide du test de Fisher ($P = 0,05$) sur les paramètres (morphologiques, physiologiques et biochimiques), en utilisant le logiciel R (V.3.6.1), de plus un taux de régression/accumulation a été calculé pour certains paramètres pour estimer l'effet du stress sur chaque génotype.

Des tests de corrélation « Pearson » entre certaines variables avait lieu toujours avec le logiciel R.

La matrice de distance euclidienne a été obtenue à l'aide de la fonction *fviz_dist* dans le package *factoextra* alors que la classification des génotypes a été réalisée en utilisant la fonction *fviz_dend* basée sur « unweighted paired group method using arithmetic average (UPGMA) » toujours dans le même package. L'analyse en Composantes principales (ACP) a été faite à l'aide du package *Factoshiny*.

Résultats et discussion

1 Etude de la variabilité morphologique des génotypes face au stress hydrique

1.1 Effet sur la surface foliaire

La surface foliaire pour tous les génotypes a été mesurée le jour d'application du stress (1^{ère} mesure) et 11 jours après (2^{ème} mesure), et cela pour les deux années d'expérimentation.

L'analyse de la variance pour la première année a révélé des effets significatifs à hautement significatifs aussi bien pour les génotypes, les régimes hydrique que pour les mesures (Annexe 27). Il en est de même pour la deuxième année d'expérimentation (Annexe 28) où nous avons constaté une réduction très importante de la surface foliaire entre les individus qui ont eu une restriction d'eau par rapport à ceux conduits à l'ETM surtout pour la deuxième mesure (Figures 30, 31).

Pour la première année, la comparaison des moyennes a fait ressortir 2 groupes, le premier (a) est constitué du cultivar Lutine non stressé qui a présenté la plus grande moyenne (30,36 cm²), le deuxième groupe (b) était constitué des individus non stressés des populations FE5725 et FE5722 qui ont présenté les plus faibles moyennes (9,41cm² et 9,01 cm² respectivement) tandis que le reste des génotypes ont été classés dans le groupe ab (Figure 30, Annexe 27). L'analyse des résultats de la deuxième année a révélé des groupes très chevauchants où Lutine a toujours présenté un groupe à part avec une plus grande moyenne (65,19cm²), alors que Medly a donné la plus faible surface foliaire (26,42 cm²) sous stress hydriques ce qui explique sa sensibilité à la sécheresse contrairement aux populations FE5715, Bfd et Rdj, où le stress n'a pas eu un effet significatif du fait que la surface foliaire chez ces individus menées en stress étaient plus importante que chez ceux menés à l'ETM (Figures 31,33 Annexe 28). La population FE5718 a présenté le pourcentage de régression moyen le plus élevé durant les deux années d'expérimentation (30,84%) (Figure 33).

L'analyse des données combinées des deux années d'étude a montré des effets très hautement significatifs pour les génotypes, régimes hydrique, années, et interaction génotypes, années (Annexe 29). Nous avons remarqué une différence très importante en termes de surface foliaire entre les années où une moyenne de 17,15 cm² a été notée au cours de la première année contre 43,6 cm² durant l'année suivante. Cela peut être expliqué par l'attaque de la fusariose au cours de la première année qui a affaibli l'appareil végétatif de tous les génotypes avant même l'application du stress hydrique.

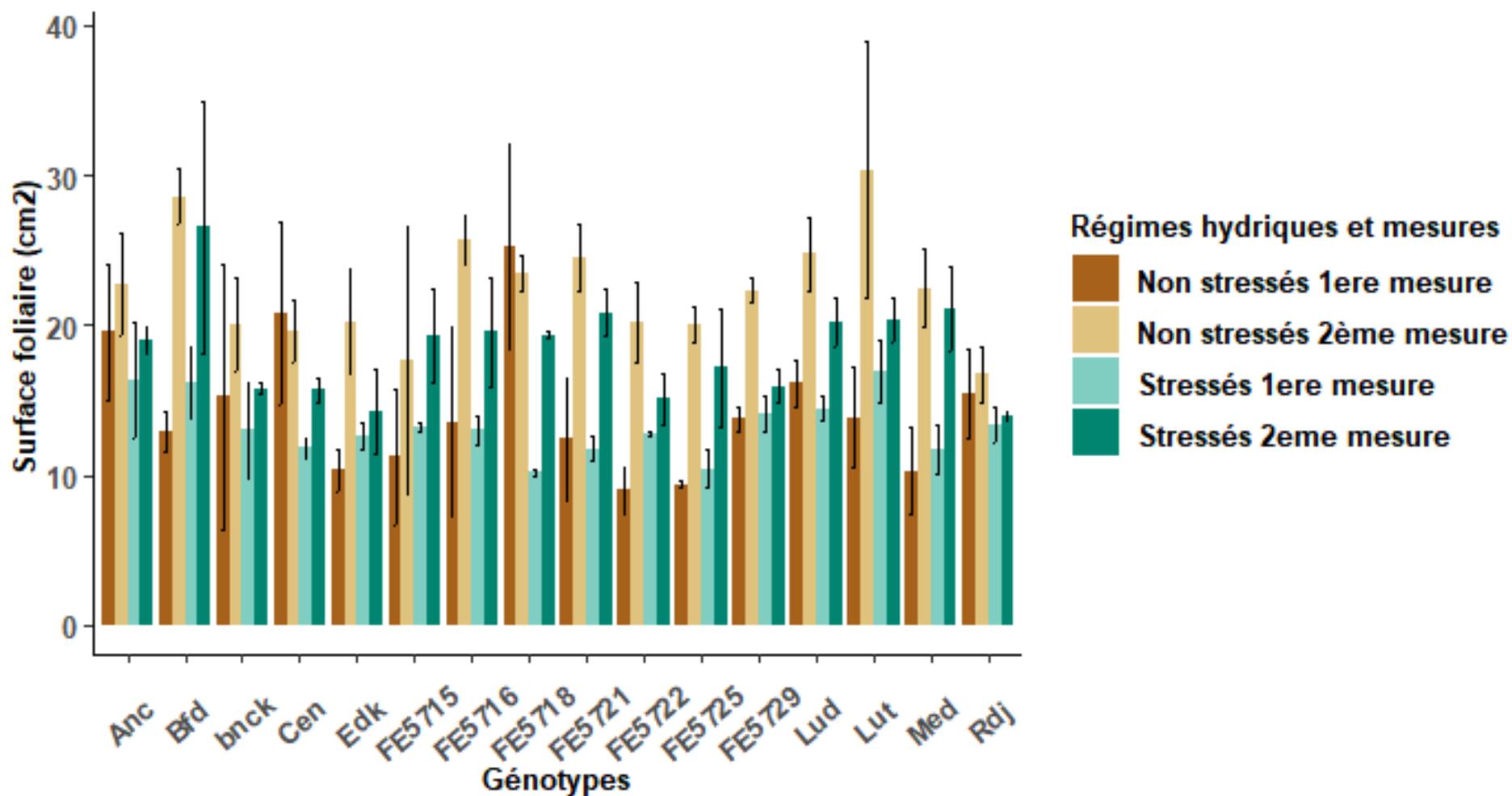


Figure 30 : La surface foliaire des différents génotypes au cours de la 1ère année d’expérimentation ($P_{génotypes}=0,03 *$; $P_{RH}=0,002 **$; $P_{Mesures}=7,78e-13 ***$).

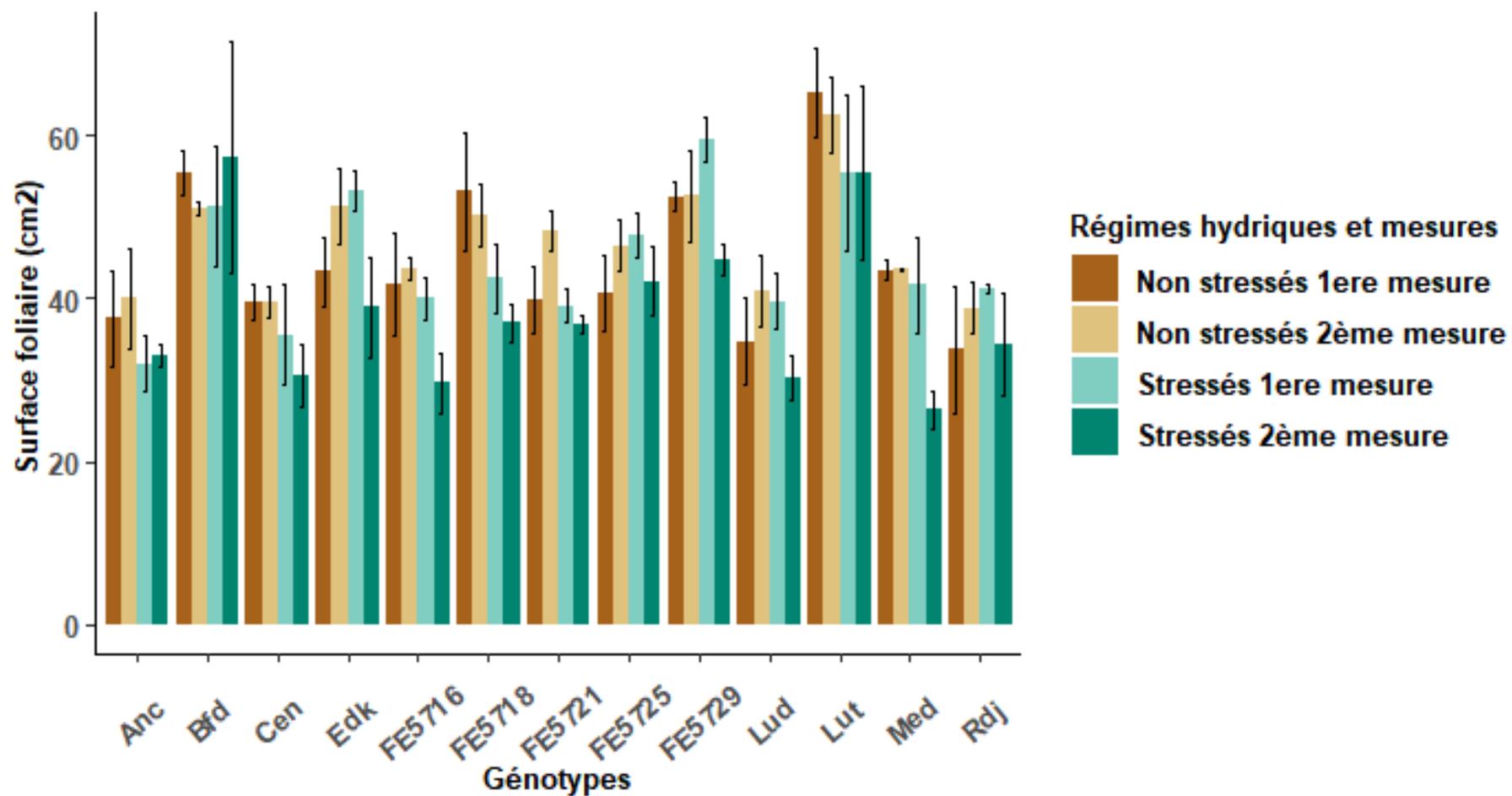


Figure 31 : La surface foliaire des différents génotypes au cours de la 2ème année d’expérimentation ($P_{génotypes}=1,33e-12$ ***; $P_{RH}=0,001$ ** ; $P_{Mesures}=NS$).

A

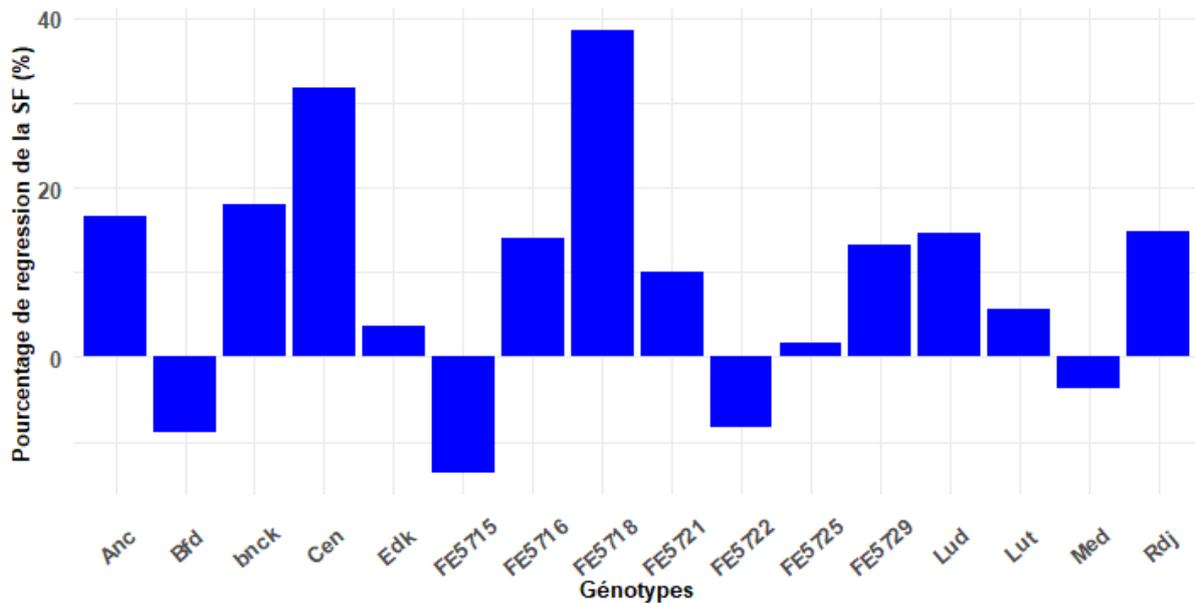


Figure 32 : Pourcentage de régression de la surface foliaire au cours de la 1^{ère} années

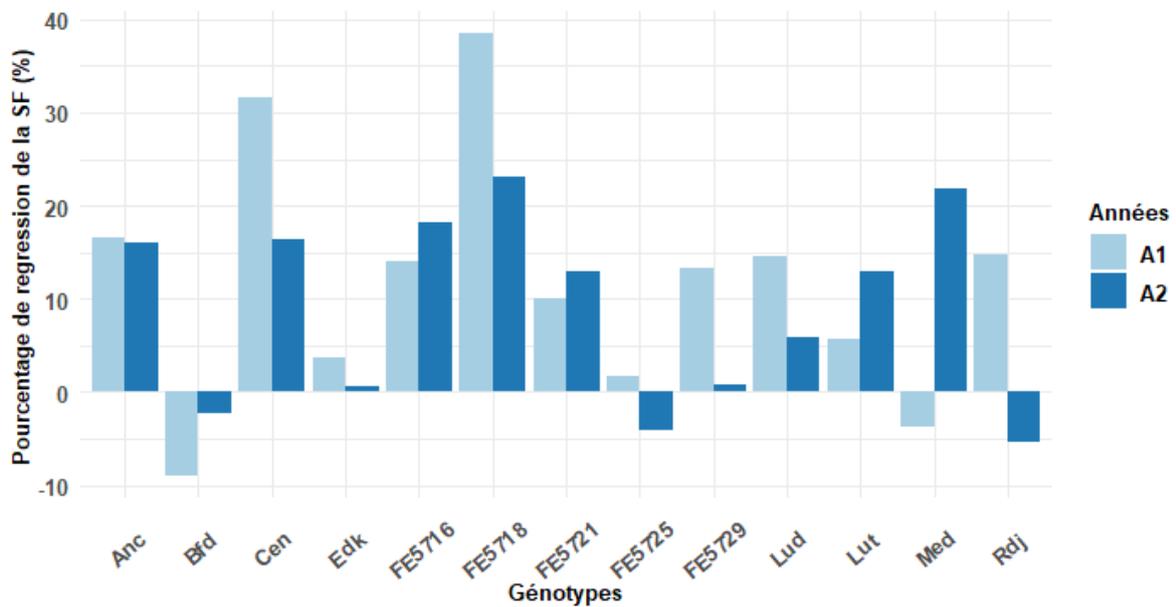


Figure 33: Comparaison du pourcentage de régression de la surface foliaire pour tous les génotypes entre la première (A1) et la deuxième (A2) année d'étude.

Mesurée sur un échantillon foliaire de 10 feuilles, prises au hasard par génotype, la surface foliaire a connu une forte régression suite aux conditions déficitaires en eau et cela pour les deux années d'étude.

Comme la demande en eau de la plante résulte en premier lieu de l'énergie solaire absorbée par les feuilles, la plante ne peut guère modifier cette demande sauf une forte réduction de sa surface d'échange (Durand, 2007). Cette réduction pourrait s'expliquer selon Granier *et al.*, (2000) ; Son *et al.*, (2011) par :

- Une réduction de la taille des feuilles et du nombre de feuilles due à une sénescence précoce de ces dernières en conditions hydriques limitantes ;
- Une diminution de la vitesse de division des cellules constituant les tissus végétaux ;
- Une modification des propriétés physico-chimiques des parois entourant les cellules, qui deviennent plus rigides, ce qui empêche leur croissance.

La diminution de la taille et de la surface foliaire est une des réponses des végétaux à la déshydratation, elle contribue à la conservation des ressources en eau et donc conditionne la résistance à la sécheresse, vu qu'une surface foliaire élevée perdra plus d'eau qu'une faible surface foliaire (Volaire and Lelièvre, 2004; Belkherchouche *et al.*, 2009) .

Cependant des données récentes montrent que la réduction de la croissance n'est pas une conséquence passive du manque d'eau dans les cellules, mais une réponse contrôlée et programmée de la plante, dont le résultat est d'anticiper les événements sévères de stress hydrique. Cette réponse est donc préventive et non subie (Gaufichon *et al.*, 2010).

De tels résultats ont été trouvés par des études menées par Mefti (2012) ; Barkat (2017); Akrouchi (2018) qui confirment une diminution de la surface foliaire pour des génotypes de fétuque élevée et de dactyle soumis à des contraintes hydriques.

1.2 Effet sur la biomasse aérienne sèche

L'application du stress hydrique a induit une diminution de la production de la biomasse aérienne sèche (BAS) pour tous les génotypes par rapport à ceux conduits à l'ETM (Figures 34,35) ; pour cela, l'analyse de la variance a connu des effets significatifs à hautement significatifs pour les génotypes et les régimes hydriques, que ce soit pour la première ou la deuxième année d'étude (Annexes 30,31).

Au cours de la première année, le cultivar Ludac a produit la plus grande biomasse aérienne sèche en condition non déficitaire en eau (24,9 g), ce qui lui a permis d'être classé dans un groupe à part (a) alors que la population Bone faid bouteldja Bfd était la plus performante sous stress (10,7 g) (Figure 34). Durant la deuxième année, nous avons toujours constaté la supériorité du cultivar Ludac quel que soit le régime hydrique appliqué (38,5 g à l'ETM vs 34,3 g sous stress) ; par contre, le cultivar Centurion a produit la plus faible biomasse aérienne (10,2g) (Figure 35).

Malgré que Ludac s'est présenté comme un cultivar performant en terme de production, mais en analysant la différence entre les pourcentage de régression de la production de biomasse des deux années (Figure 37), on déduit que ce cultivar est le plus sensible à la sécheresse en enregistrant une différence de régression de 46,4% ; par contre, la population Rdj a enregistré une différence de régression la plus faible pour les deux années d'étude (1,12%) ce qui explique sa résistance à la sécheresse et ses potentialités pour intégrer un programme de création variétale pour la tolérance à la sécheresse.

De plus, l'analyse des deux années d'étude, nous a révélé une augmentation de la production de biomasse plus importante en deuxième année que l'année précédente. En première année, la production de biomasse était en moyenne de 13,01g pour les plants non stressés contre 7,9 g sous stress hydrique ; alors qu'en deuxième année, elle était de 27,3 g pour ceux conduits à l'ETM et de 18,03 g en conditions déficitaires en eau. Cette différence a fait que l'analyse de la variance pour les deux années d'étude soit très hautement significative ($p < 0.001$) pour les génotypes, régime hydrique et années (Annexe 32). Cette augmentation peut être expliquée par l'amélioration des conditions climatiques durant les mois de mai et juin en 2018 par rapport à l'année 2017, qui s'est caractérisée par une baisse des températures journalières moyennes (22° C vs 19°C) et une augmentation du cumul de

précipitations (5,5 mm en 2017 vs 43 mm en 2018) (voir chapitre II diagramme ombrothermique).

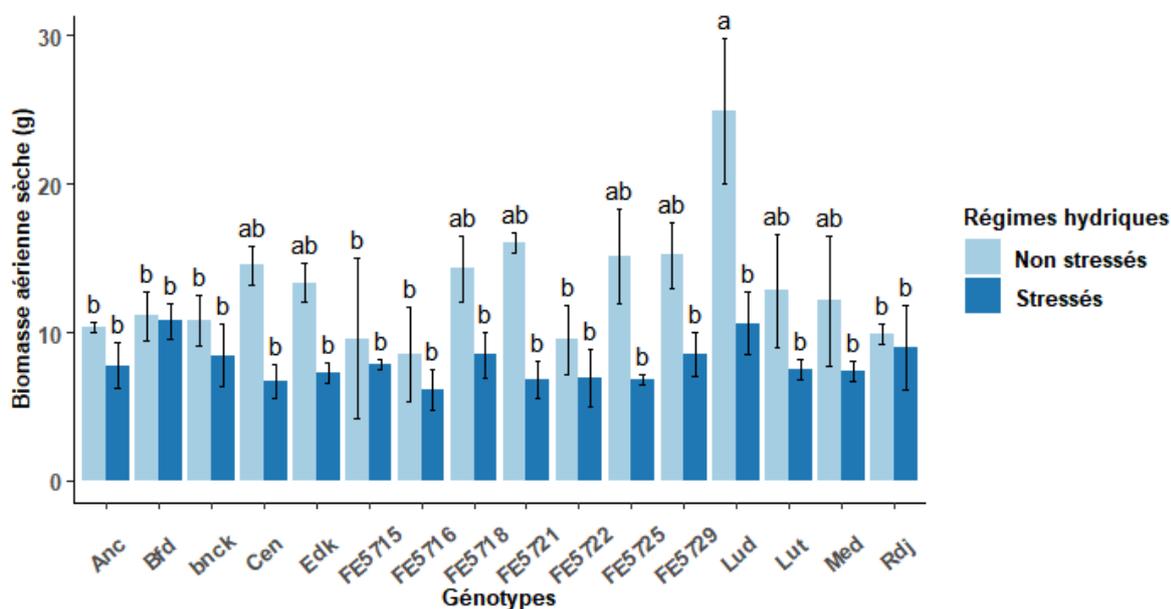


Figure 34 : La biomasse aérienne sèche produite (g) des différents génotypes au cours de la 1ere année d’expérimentation ($P_{génotypes}=0,02 *$; $P_{RH}=3,596e-08 ***$).

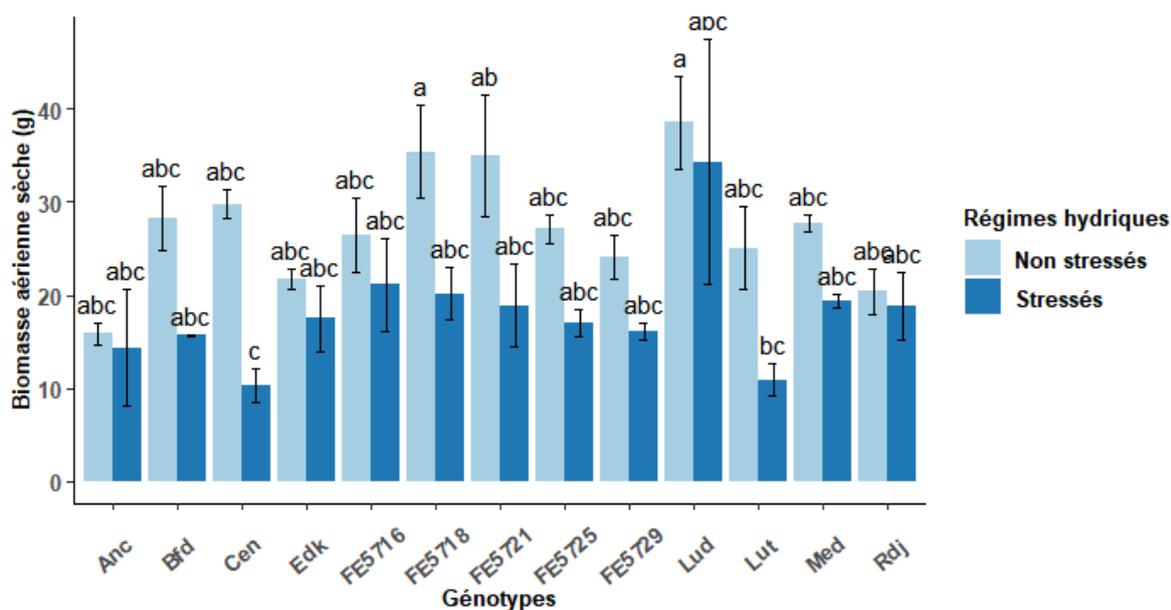


Figure 35 : La biomasse aérienne sèche produite (g) des différents génotypes au cours de la 2ème année d’expérimentation ($P_{génotypes}=0,001 **$; $P_{RH}=7,035e-07 ***$).

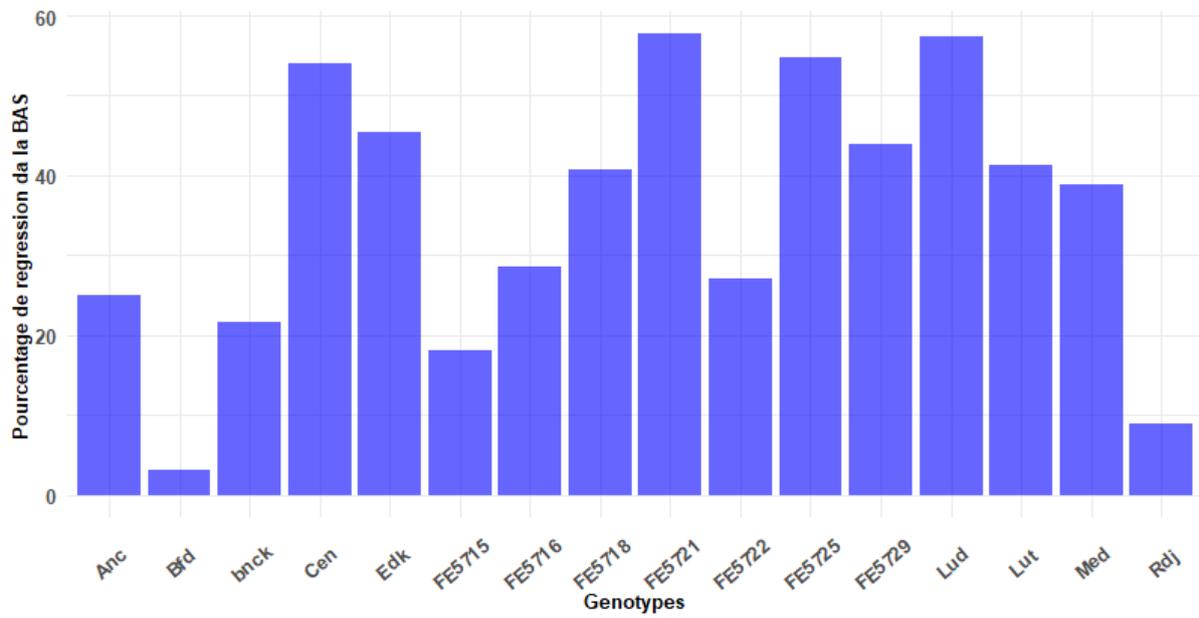


Figure 36 : Pourcentage de régression de la biomasse aérienne sèche pour tous les génotypes à la première année d'étude

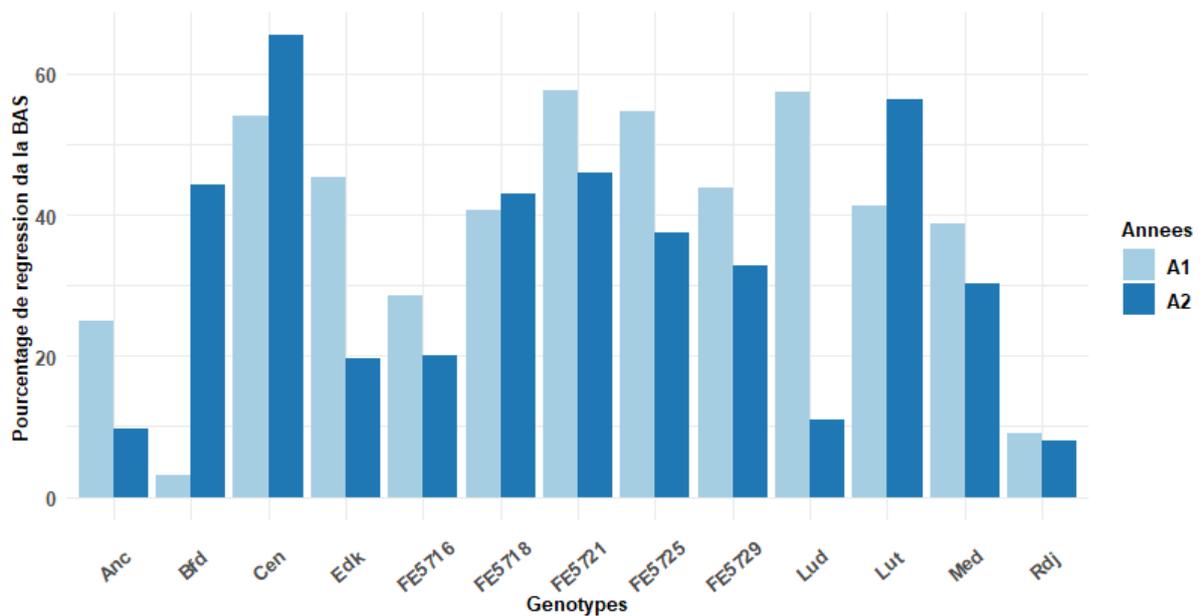


Figure 37: Comparaison du pourcentage de régression de la biomasse aérienne sèche pour tous les génotypes entre la première (A1) et la deuxième (A2) année d'étude.

1.3 Effet sur la biomasse racinaire sèche

La biomasse racinaire sèche (BRS) a été mesurée uniquement en deuxième année d'expérimentation où la restriction hydrique a provoqué une réduction très importante de la production, soit 11,2 g en moyenne pour les individus soumis au stress contre 24,9 g pour ceux conduits à l'ETM (Figure 38). L'analyse de la variance a révélé des effets hautement significatifs ($P < 0.001$) pour les génotypes et les régimes hydriques (Annexe 33).

La comparaison des moyennes a fait ressortir des groupes chevauchants, où nous remarquons que le cultivar Ludac a été classé à part (a) en régime non stressé, en présentant la plus grande biomasse racinaire (36,73 g) alors que le cultivar Lutine a produit la plus faible biomasse en régime déficitaire en eau (6 g). Cependant, malgré cette supériorité du cultivar Ludac, son pourcentage de régression suite au stress hydrique est le plus élevé (63,59 %), ce qui confirme sa sensibilité à la sécheresse contrairement à la population Anc qui a produit la plus grande biomasse racinaire en régime stressant (18,01g) donnant ainsi le plus faible taux de régression (41,46 %) (Figures 39,40) ; ce qui nous permettrait de dire que c'est la population la plus tolérante au stress hydrique du point de vue biomasse racinaire.

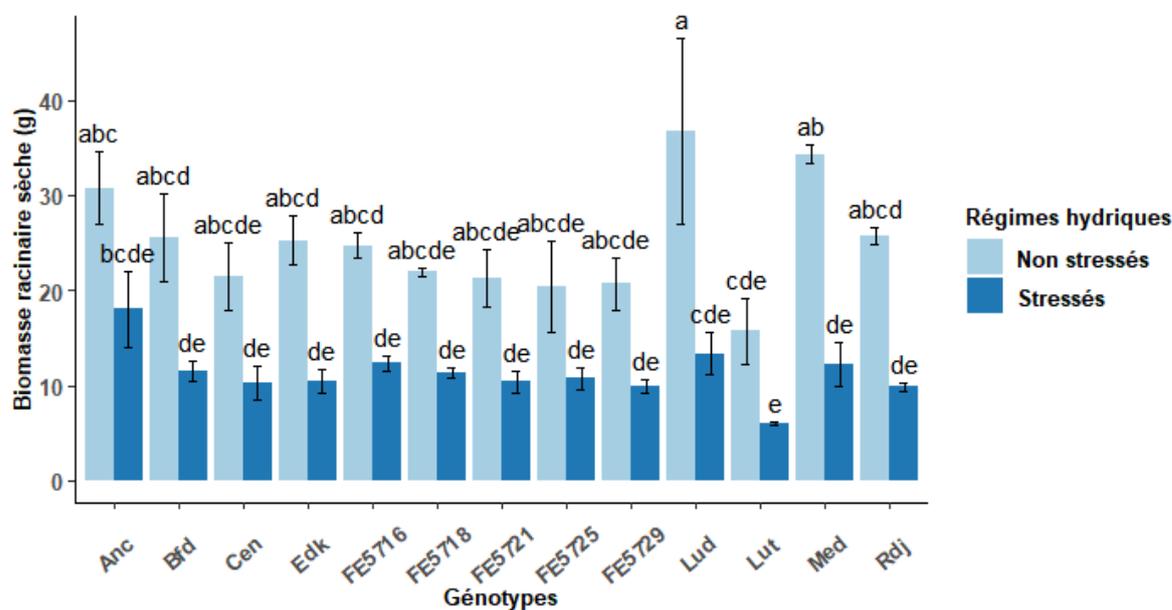


Figure 38 : La biomasse racinaire sèche produite (g) des différents génotypes au cours de la 2ème année d'expérimentation ($P_{\text{génotypes}}=0,0008$ *** ; $P_{RH}=7,52e-16$ ***).

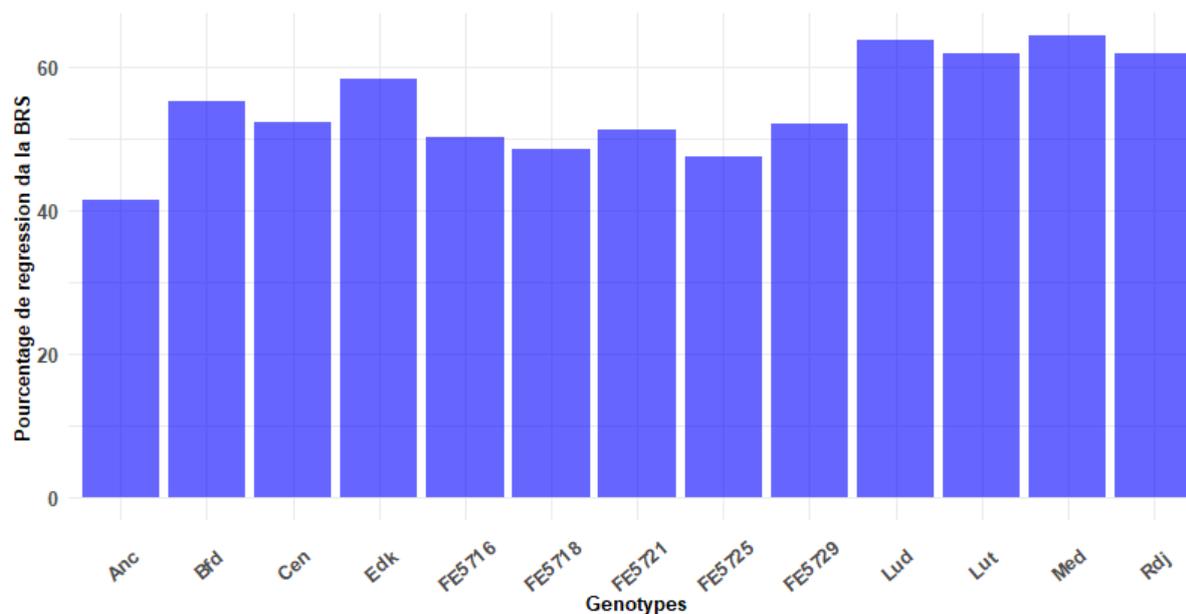


Figure 39 : Pourcentage de régression de la biomasse racinaire sèche pour tous les génotypes en deuxième année d'étude

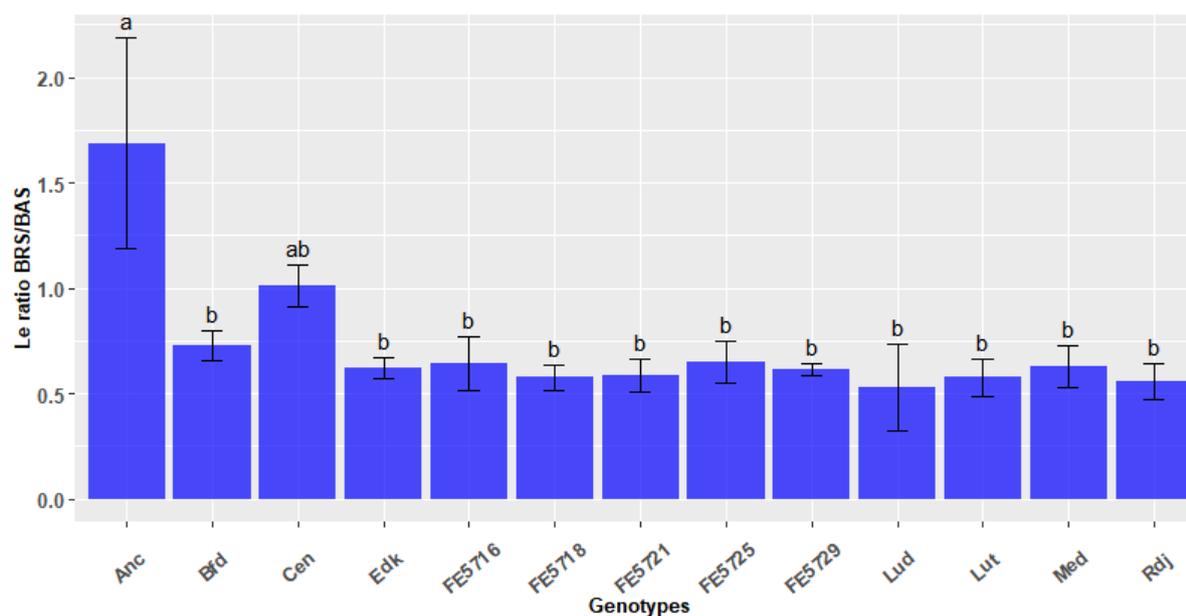


Figure 40 : Rapport entre biomasses racinaires et aériennes sèches des différents génotypes sous conditions de stress hydrique au cours de la 2ème année d'étude ($P_{\text{génotypes}}=0,003$ **).

La restriction hydrique a induit une baisse de la production de biomasse aérienne pour tous les génotypes. Selon Dwivedi *et al.*, (2008), cette baisse de rendement serait due à la diminution de la surface évapo-transpirante par la sénescence des feuilles. De tels résultats ont été prouvés par des études menés sur l'orge (Saeidi *et al.*, 2013), sur fétuques élevées,

dactyles et d'autres graminées fourragères (Barkat, 2017; Akrouchi, 2018; Meisser *et al.*, 2018), qui confirment la réduction progressive de la production de la biomasse avec l'accroissement de l'intensité du stress appliqué.

A cet effet, Blum (2005) a mentionné que la sensibilité à la sécheresse d'un génotype est souvent mesurée en fonction de la réduction du rendement, ce qui nous permet de constater dans cette présente étude la sensibilité au stress hydrique de certains cultivars par rapport aux populations, il s'agit des cultivars de dactyle Medly et Ludac ayant présenté le plus grand taux de régression (Figure 39), pour le cultivar Ludac, cela pourrait être dû à son origine non méditerranéenne (Kallida *et al.*, 2016b), d'où sa difficulté d'adaptation aux conditions méditerranéennes contraignantes. Par ailleurs, les populations Ruines de djemila et Bone faid bouteldja se sont présentées plus performantes en termes de production de biomasse en conditions déficitaires en eau ce qui donne l'intérêt de leur sélection pour un programme d'amélioration variétale.

Etant donné que la production de biomasse dépend essentiellement de la disponibilité de l'eau, qui est assurée par le système racinaire, ce dernier joue un rôle important dans le maintien d'un approvisionnement (bien que faible) en eau pendant les sécheresses sévères et contribue à la survie de nombreuses graminées fourragères (Garwood and Sinclair, 1979). Dans le présent travail, nous avons enregistré une baisse de la biomasse racinaire pour tous les génotypes soumis au stress, cela pourrait être expliqué selon Oukara *et al.*, (2017) par une disparition successive des racines secondaires suite à une augmentation de la contrainte hydrique.

En ce qui concerne le ratio biomasse racinaire et aérienne sèche certains génotypes tels que la population de dactyle Anouche, la restriction hydrique n'a pas eu un effet négatif car cette population a été classée dans un groupe à part (a) (Figure 40) en présentant le ratio biomasse racinaire et aérienne sèche le plus élevé (1,68). En effet, les populations de dactyle ont présenté le ratio le plus élevé parmi tous les génotypes (0,9 en moyenne). Cette supériorité des populations a fait que l'analyse de la variance pour le ratio soit hautement significative entre les génotypes ($P= 0.003$) (Annexe 34).

L'augmentation du ratio biomasse racinaire et aérienne dans des conditions de sécheresse a été considéré comme un mécanisme important permettant d'explorer plus le volume du sol afin d'absorber plus d'eau (Pirnajmedin *et al.*, 2015), de tels mécanisme a été considéré comme une stratégie d'évitement de la sécheresse (Guo *et al.*, 2002; Bonos *et al.*, 2004;

Karcher *et al.*, 2008), et donc de forte corrélation de tolérance se produit (Grzesiak *et al.*, 1999; Jongrunklang *et al.*, 2011).

2 Etude de la variabilité biochimique et physiologique des génotypes face à la contrainte hydrique

Pour les paramètres biochimiques et physiologiques, les analyses ont été réalisées deux fois : 15 jours après l'application du premier cycle de stress hydrique, et 17 jours après l'application du deuxième cycle de stress.

2.1 Action du stress hydrique sur la teneur relative en eau

L'analyse de la variance pour la teneur relative en eau a connu des différences hautement significatives pour les génotypes, régimes hydrique et cycles pour la première année d'étude (Annexe 35), il en est de même pour la deuxième année, seulement en cette année l'analyse s'est révélée non significative pour le cycle (Annexe 36). L'analyse pour l'interaction entre les deux années a indiqué aussi des différences hautement significatives pour la variable « année » (Annexe37).

La restriction hydrique a induit une baisse très importante de la teneur en eau pour tous les génotypes par rapport à ceux conduits à l'ETM et cela pour les deux années d'étude (Figures 41 et 42). En effet elle est de 83,14% et 83,23 % pour les individus non stressés contre 46,37% et 24,5% pour ceux conduits sous stress en première et deuxième années respectivement.

De plus, nous avons remarqué en première année une baisse de la teneur relative en eau pour tous les génotypes non stressés en 2^{ème} cycle par rapport au premier à l'exception de la population de dactyle (Anc). Les individus soumis au stress ont, par contre, connu une amélioration de la teneur en eau relative dans les cellules en 2^{ème} cycle après avoir eu une baisse très importante en 1^{er} cycle. Durant cette année les populations de dactyle Bfd et Anc conduites à l'ETM ont enregistré les teneurs les plus élevées pour les deux cycles respectivement (94,4% et 94,64%), alors que la population FE5718 et le cultivar Lutine ont connu les valeurs les plus élevées sous stress pour le premier et le deuxième cycle respectivement (40,61%, 81,28%) (Figure 41). Malgré la supériorité du cultivar lutine en 2^{ème} cycle, en analysant le pourcentage de régression nous avons constaté qu'il a enregistré la

régression la plus élevée soit 62,47%, ce qui explique sa sensibilité au stress, tandis que la population FE5718 a connu la régression la plus faible (30,73%) (Figure 43).

Pour ce qui est de la deuxième année, les génotypes ont réagi différemment en 2^{ème} cycle, certains ont amélioré leurs teneurs en eau relatives, tandis que d'autres non (Figure 42). Les génotypes Bfd et Medly, conduits sans stress, ont enregistré les taux les plus élevés en 1^{er} et 2^{ème} cycle respectivement (93,64% et 88,10 %), alors que sous stress, ce sont les génotypes Centurion et FE5721 qui ont donné les plus grandes valeurs (35,22% et 53,28%). En analysant le pourcentage de régression, nous avons constaté la faible tolérance au stress de la population FE5729 qui a donné la régression la plus élevée (81,65%) en 2^{ème} année ; tandis que, FE5721 a enregistré la différence entre les pourcentages de régression la plus faible (0,5%) (Figure 44).

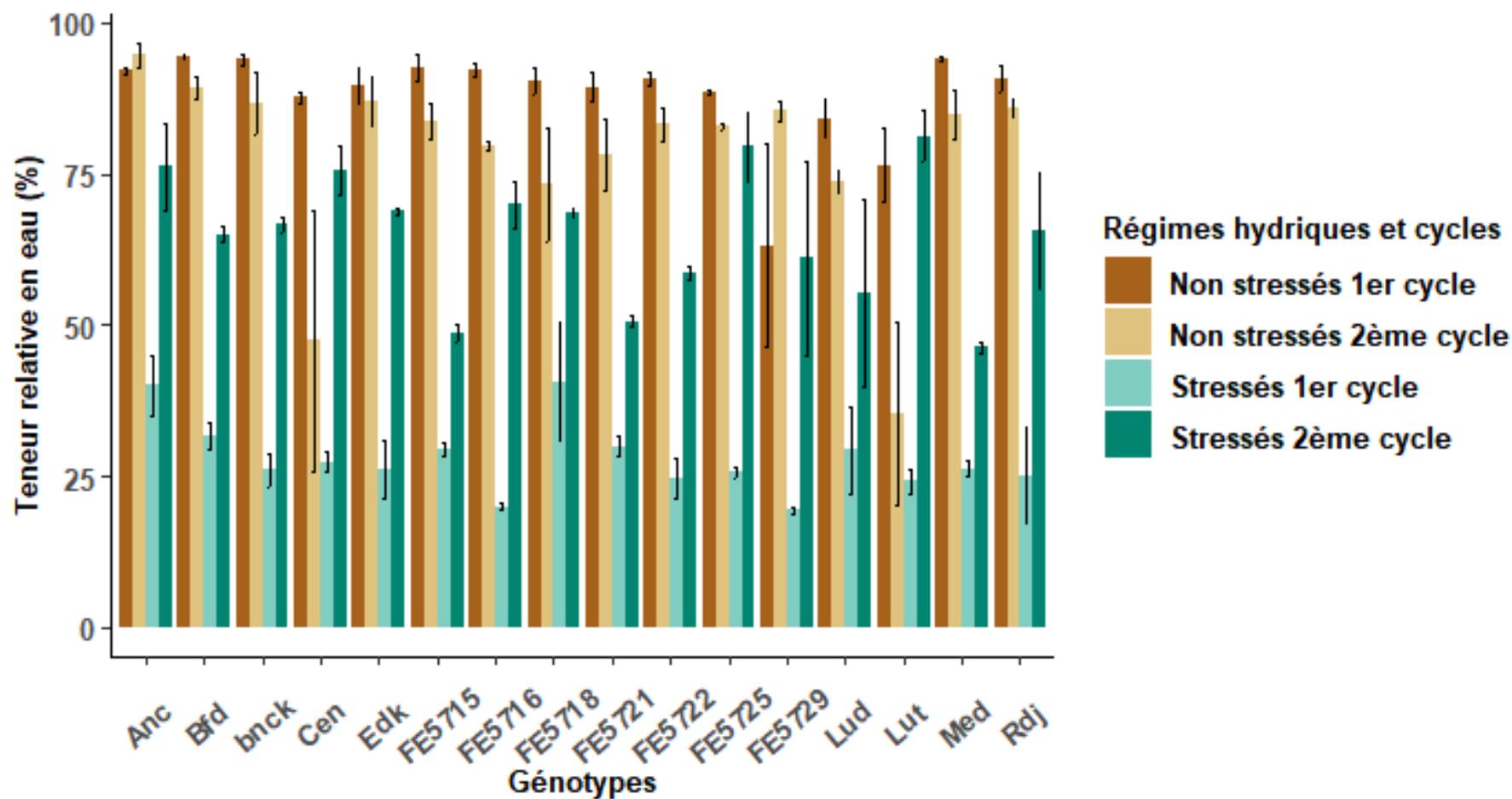


Figure 41 : La teneur relative en eau (%) des génotypes au cours de la 1ère année d'étude ($P_{génotypes}=0,0001$ ***; $P_{RH} < 2,2e-16$ *** ; $P_{cycles} 2,240e-15$ *** ; $P_{G \times RH \times C} = 0,0001$ ***).

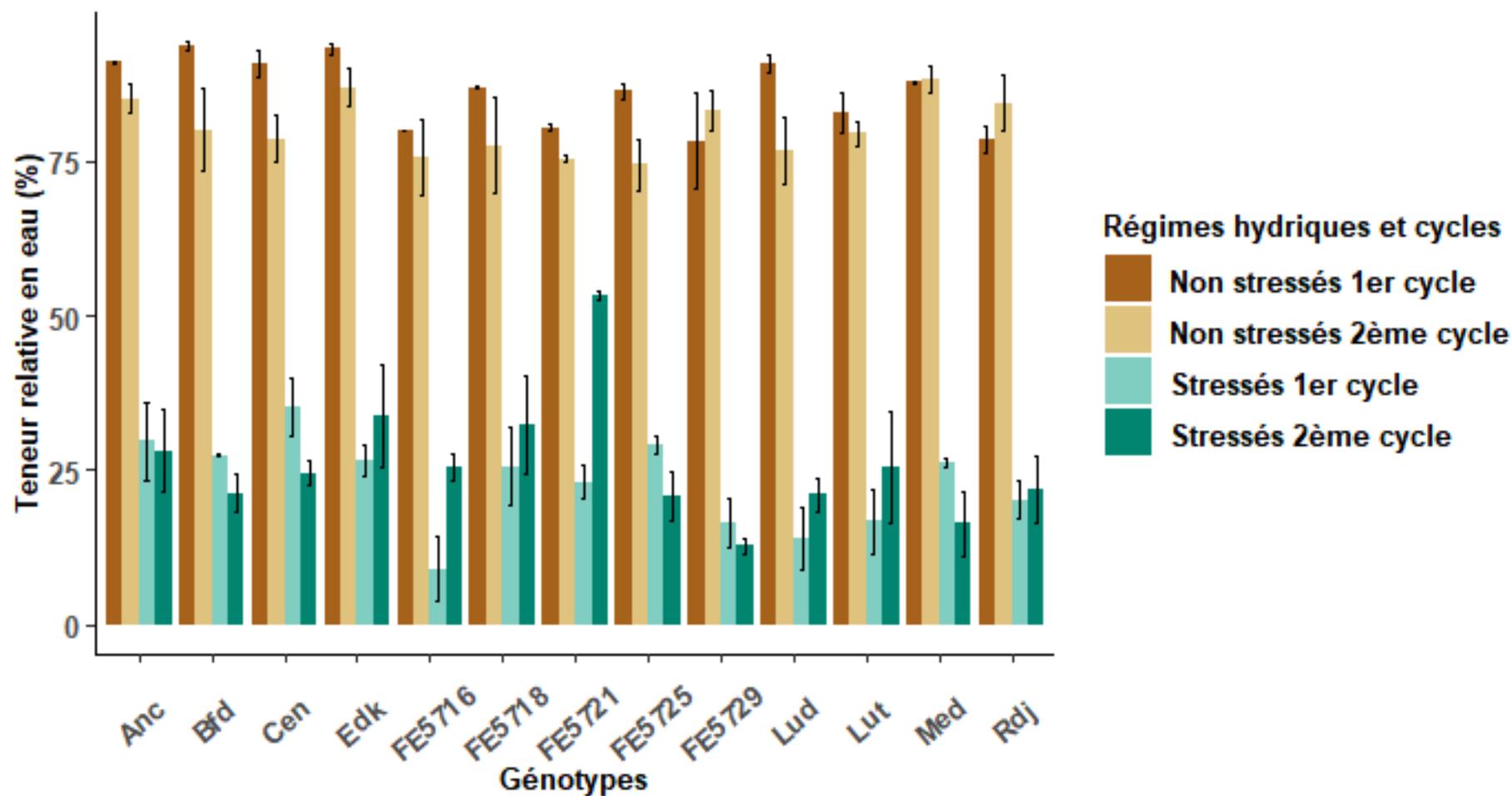


Figure 42 : La teneur relative en eau (%) des génotypes au cours de la 2ème année d'étude ($P_{génotypes}=9,431e-05$ *** ; $P_{RH} < 2,2e-16$ ***; P_{cycles} NS ; $P_{G \times RH \times C} = 0,009$ **).

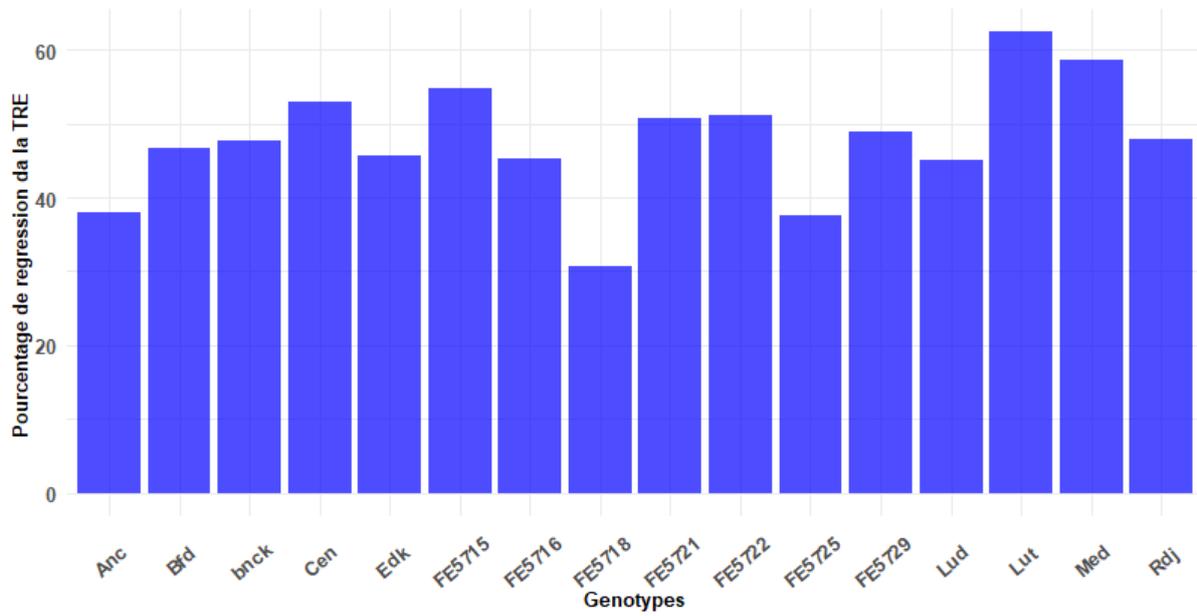


Figure 43 : Pourcentage de régression moyen de la teneur relative en eau des génotypes en première d'étude.

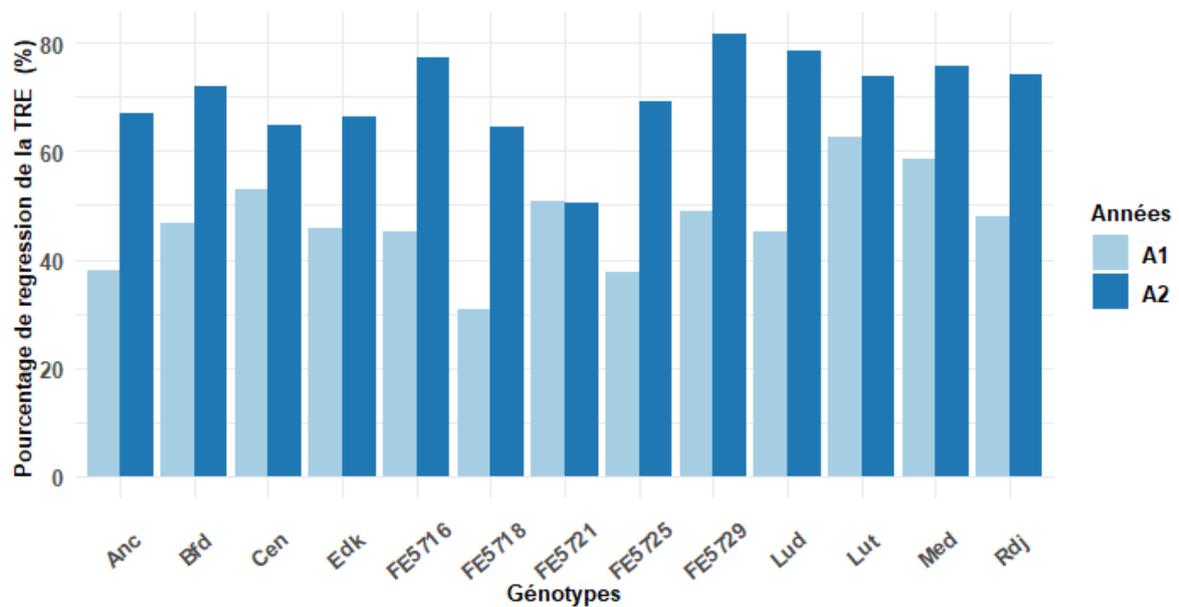


Figure 44 : Comparaison du pourcentage de régression de la teneur relative en eau pour tous les génotypes entre la première (A1) et la deuxième (A2) année d'étude

La teneur relative en eau est un paramètre hautement influencé par le stress hydrique et qui décrit la capacité de la plante à se maintenir hydratée en conditions déficitaires (Bousba *et al.*, 2013). Selon Kacperska (2004) ; Arraouadi *et al.*, (2011) le maintien de valeurs assez élevées de la teneur en eau relative, en condition de stress peut résulter de deux mécanismes d'adaptation : maintien d'une élasticité élevée des tissus, ou diminution de la pression osmotique. Ceci résulte probablement d'une osmorégulation active, suite à un mécanisme de tolérance au stress par ajustement osmotique lié à l'accumulation de la proline (Geravandi *et al.*, 2011).

De tels résultats ont été obtenus par Bousba *et al.*, (2013) sur blé dur, Pan (2011); Barkat (2017); Akrouchi (2018) sur dactyle et fétuques élevées.

2.2 Action du stress hydrique sur la stabilité membranaire

Comme pour la TRE, l'analyse de la stabilité membranaire est un autre critère à prendre en considération pour avoir une idée sur la tolérance à la sécheresse des différents génotypes de dactyles et de fétuques élevées. En effet, l'analyse de la variance a révélé des différences significatives à hautement significatives entre les génotypes et les régimes hydriques pour les deux années ; tandis que, pour le cycle l'analyse était non significative en 2^{ème} année. L'analyse des interactions entre les deux années a aussi révélé des différences hautement significatives sauf que pour la variable année elle est non significative (Annexes 38, 39,40).

La restriction hydrique a conduit à une baisse de la stabilité membranaire de tous les génotypes par rapport à ceux menés à l'ETM, elle est en moyenne de 80,62% et 85,75% pour les non stressés en 1^{ère} et 2^{ème} année respectivement, alors que pour les génotypes stressés, elle est de 49,85% et 40,56%.

Durant la première année, la population FE5729 conduite à l'ETM a enregistré la valeur la plus élevée en premier cycle (91,28%) ; tandis que, le cultivar Centurion l'a enregistrée en 2^{ème} cycle (93,75%), il a aussi connu une supériorité en conditions de stress hydrique où il a donné en 2^{ème} cycle une valeur de 90 % (Figure 45).

En deuxième année d'expérimentation, nous avons noté que la population FE5716 conduite à l'ETM a enregistré les valeurs de stabilité membranaire les plus élevées pour les

deux cycles respectivement (96,95% et 94,07%), alors que le cultivar Centurion sous stress a aussi enregistré une supériorité en 1^{er} cycle (70,71%) ; par contre en 2^{ème} cycle, c'est la population FE5721 qui a pris le dessus sur tous les génotypes testés (50,35%) (Figure 46).

En analysant le pourcentage de régression, nous avons remarqué la sensibilité du cultivar Ludac face au stress, car il a enregistré les taux de régression les plus élevés et cela pour les deux années (71,03% et 67,53%), alors que la population Anc et le cultivar Centurion ont enregistré les taux les plus faibles (41,4% et 34,59%) en 2^{ème} années. La population Rdj quant à elle, a montré une différence très faible entre les pourcentages de régression des deux années d'études (0,3%) (Figures 47,48).

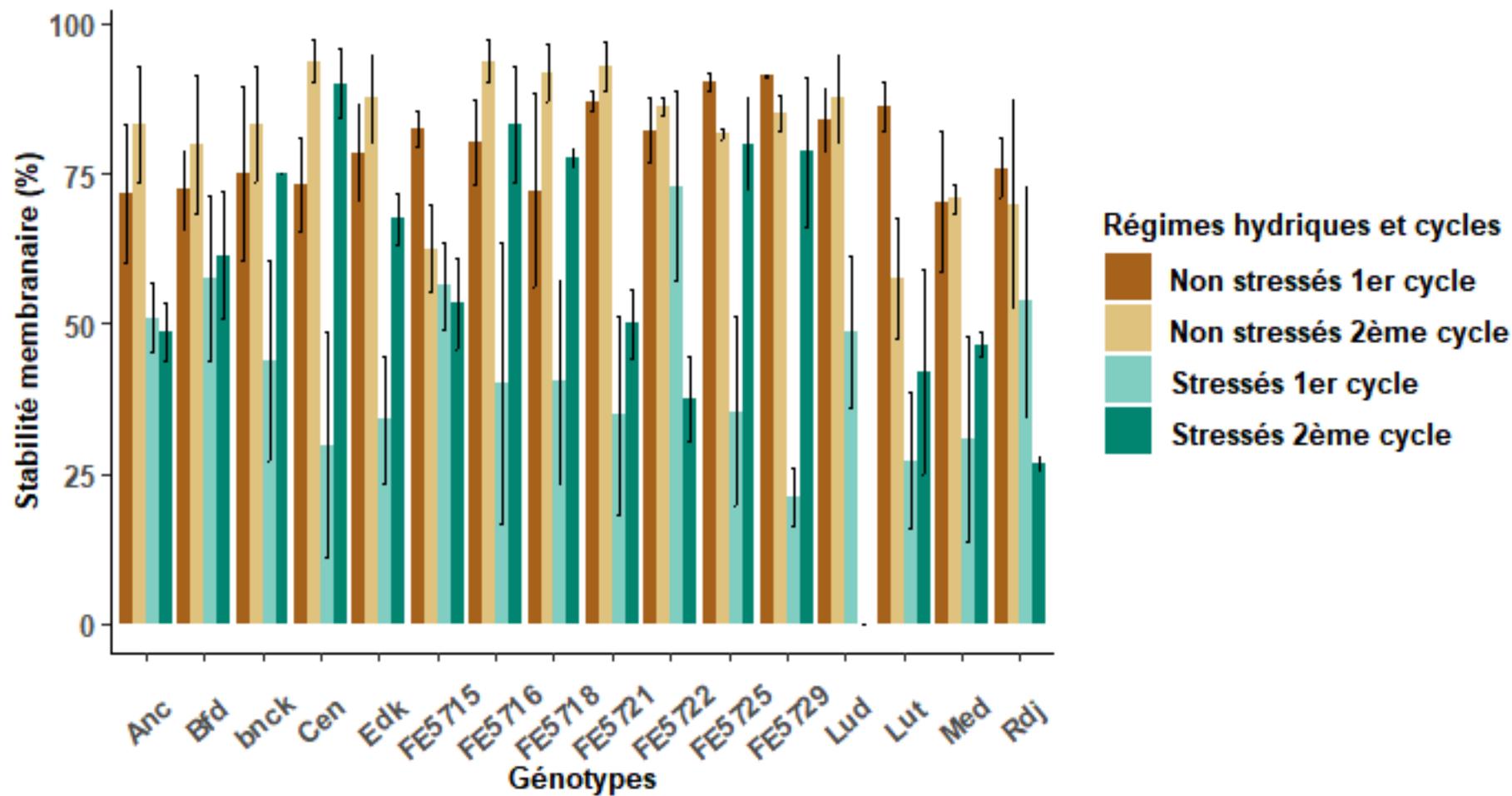


Figure 45 Stabilité membranaire des génotypes en première année d'étude ($P_{génotypes}=0,03$ *; $P_{RH} < 2e-16$ ***; $P_{cycles} = 0,0009$ ***; $P_{G \times RH \times C} = 0,002$ **).

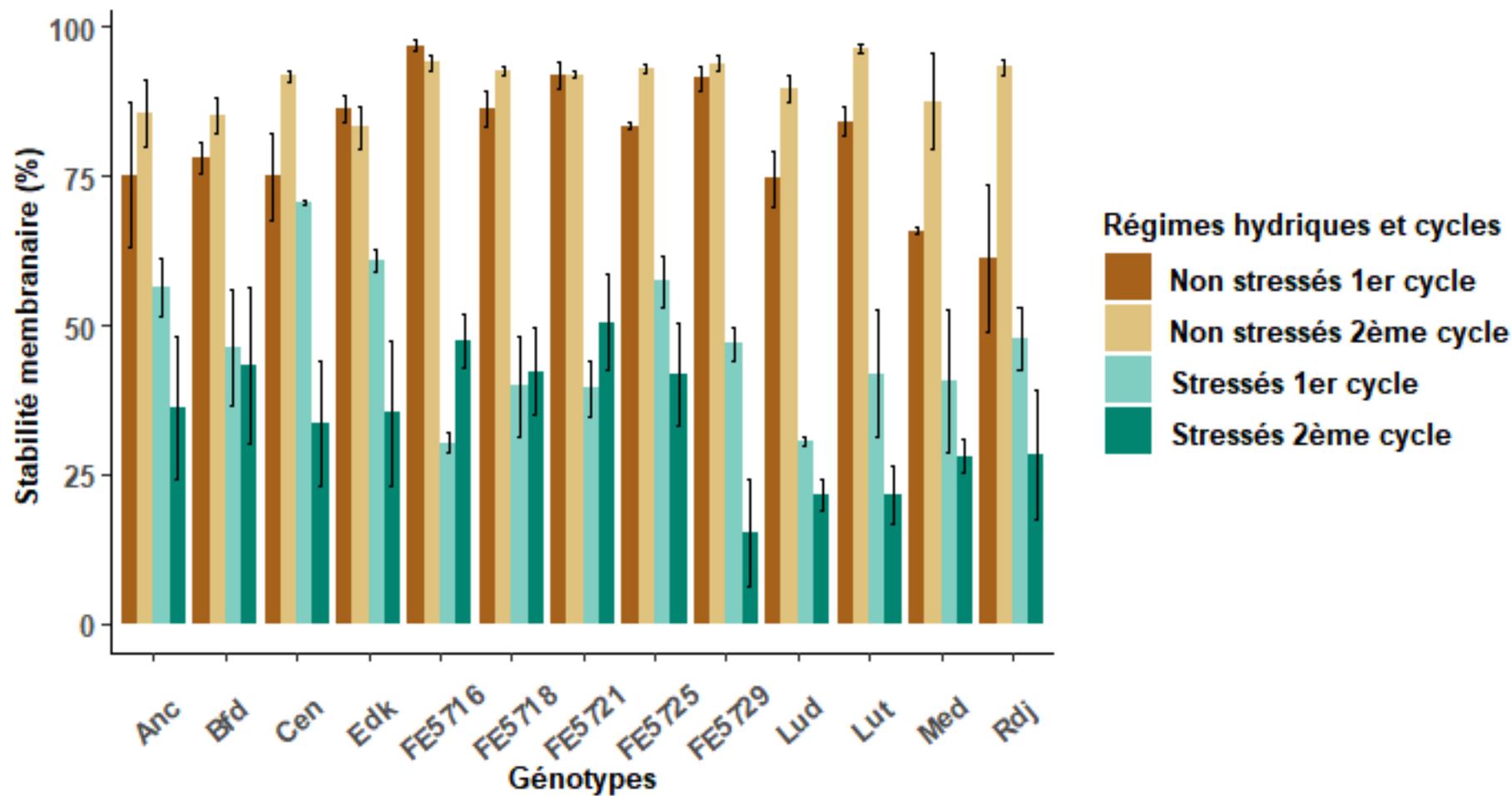


Figure 46 : Stabilité membranaire des géotypes en deuxième année d'étude ($P_{géotypes}=0,008$ **; $P_{RH} < 2e-16$ ***; $P_{cycles} NS$; $P_{G \times RH \times C} = 0,001$ **).

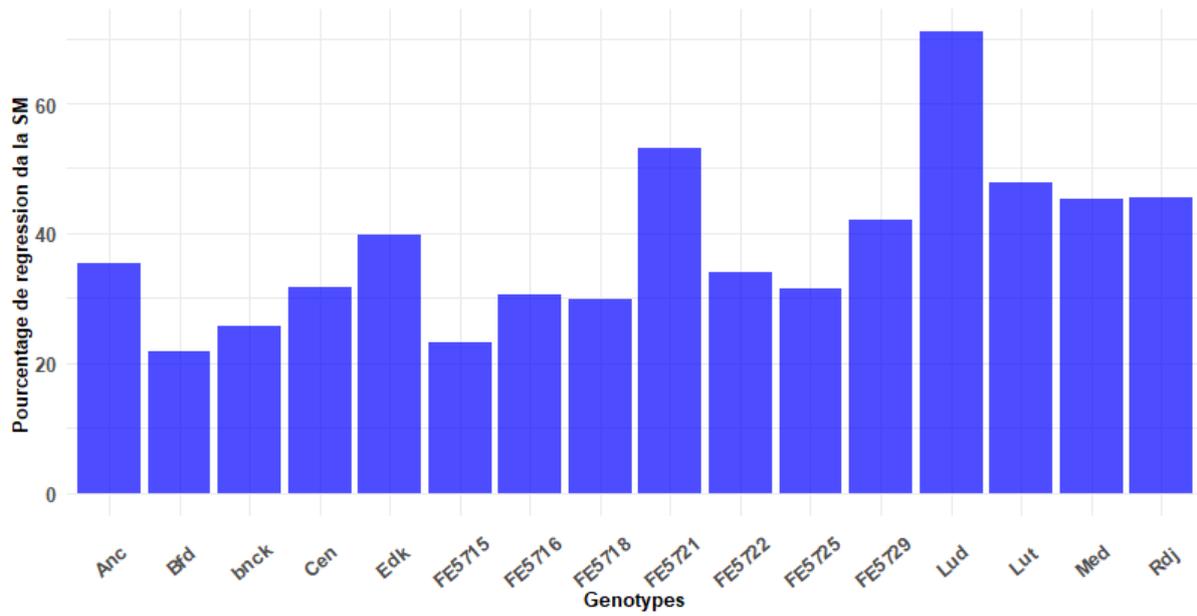


Figure 47 : Pourcentage de régression de la stabilité membranaire des génotypes au cours de la première d'étude

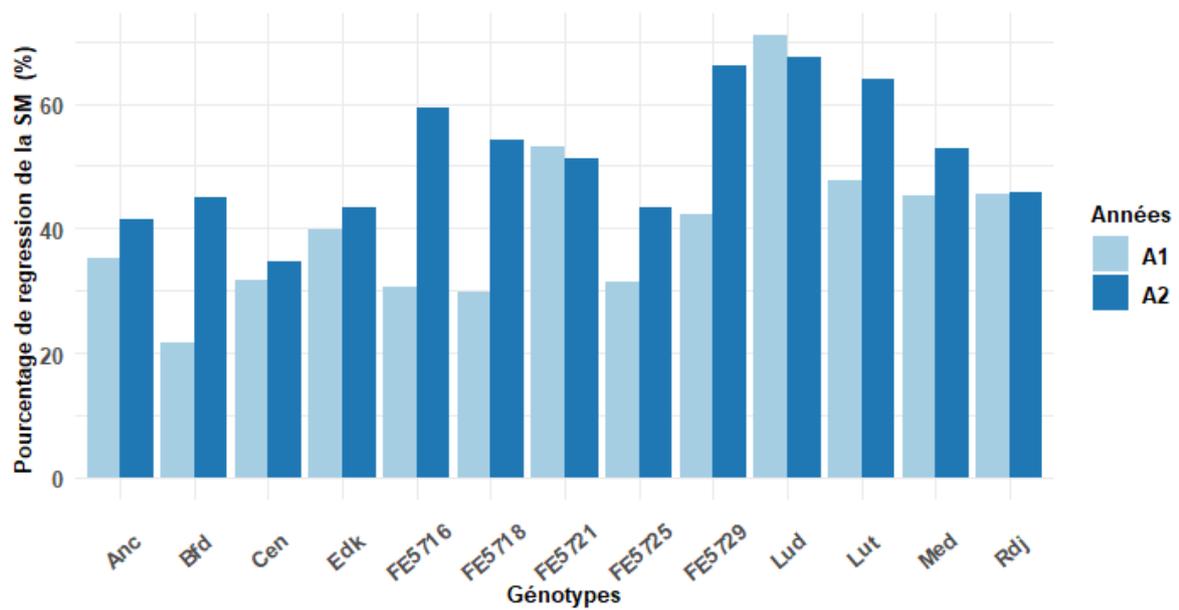


Figure 48 : Comparaison du pourcentage de régression de la teneur relative en eau pour tous les génotypes entre la première (A1) et la deuxième (A2) année d'étude.

Les membranes cellulaires sont considérées comme l'une des premières cibles affectées par le stress, provoquant une déstabilisation des membranes plasmiques (Campos *et al.*, 2003), d'où la grande importance de la notion de stabilité membranaire. Le degré de dommage membranaire peut être estimé indirectement en mesurant le taux de perte d'électrolytes et la fuite d'ions à travers les membranes qui se sont largués hors de la cellule lors d'un choc osmotique (Blum and Ebercon, 1981; Rachmilevitch, 2006).

Dans la présente étude, le cultivar Centurion et la population Anouche maintiennent une meilleure stabilité membranaire comparativement au cultivar Ludac qui a connu une détérioration très importante de ses membranes, cela confirme encore sa sensibilité aux conditions déficitaire en eau. Selon le test de corrélation de Pearson, nous avons constaté une corrélation significativement positive entre la stabilité membranaire et la teneur relative en eau pour la 1^{ère} et la 2^{ème} année ($R=0,69$ et $0,89$ respectivement) (Annexe 41). En effet, une stabilité membranaire plus élevée signifie que les cellules étaient mieux protégées et maintenaient une turgescence cellulaire et une teneur en eau plus élevée, ce qui est essentiel pour toutes les activités physiologiques (Almeselmani and Saud, 2014).

2.3 Action du stress hydrique sur la synthèse des pigments chlorophylliens dans les feuilles

➤ La chlorophylle (a)

Sur la base de l'analyse de la variance, nous avons constaté que la synthèse de la chlorophylle (a) n'a pas été affecté par la restriction hydrique et cela pour les deux années d'étude ; en effet, nous avons enregistré une très petite différence de moyennes entre les individus soumis au stress ($2,52\mu\text{g}/100$ mg de MVF) et ceux conduits à l'ETM ($2,27 \mu\text{g}/100$ mg de MVF) (Annexes 42,43).

Durant la première année, l'analyse a révélé une différence hautement significative entre les génotypes et non significative entre les deux régimes hydriques, bien au contraire certains individus soumis au stress ont présenté de fortes valeurs par rapport à ceux conduits à l'ETM. la population Rdj a enregistré la valeur la plus élevée en chlorophylle (a) et cela pour les deux régimes hydriques ($2,40\mu\text{g} / 100\text{mg}$ de MVF) ; alors que, le cultivar Centurion a donné les plus faibles valeurs ($0,9 \mu\text{g} / 100\text{mg}$ de MVF) (Figure 49, Annexe 42).

Quant à la deuxième année, même résultats a été obtenu où la restriction hydrique n'a pas eu un effet sur la synthèse de la chlorophylle (a) pour les géotypes testés de ce fait l'analyse de la variance n'a révélé aucune différence significative entre géotypes ou régimes hydriques, la seule différence marquée est celle du cycle appliqué, où nous avons constaté une augmentation de la synthèse de la chlorophylle (a) en 2^{ème} cycle pour tous les géotypes, à l'exception de FE5716 et Edk, et cela pour les deux régimes hydriques (Figure 50, Annexe 43).

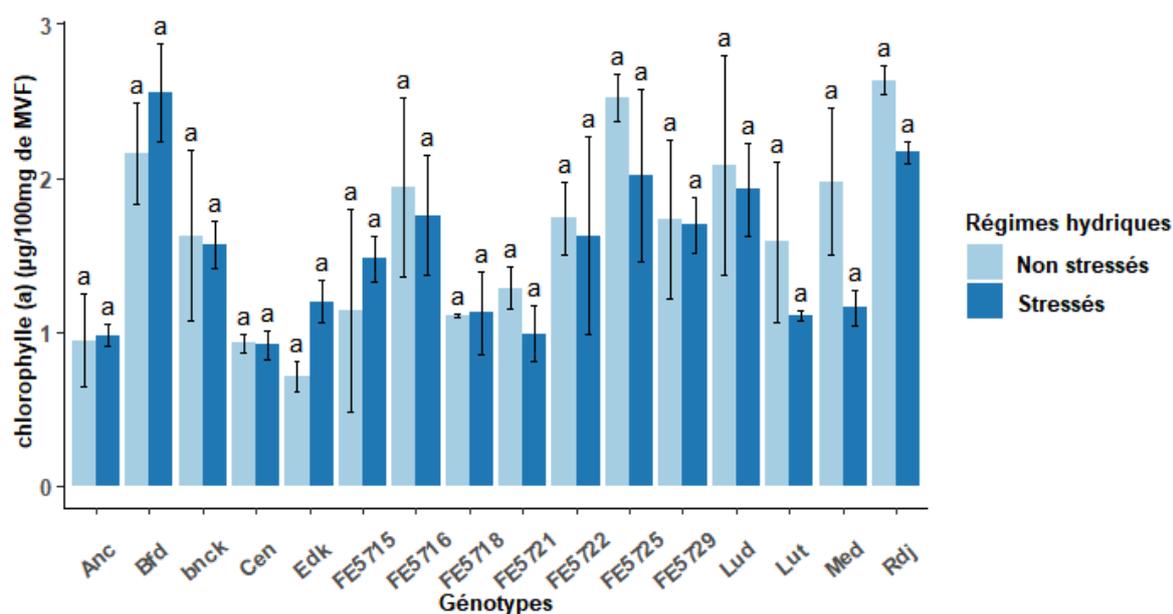


Figure 49 : Variation des teneurs moyennes en chlorophylle (a) (µg / 100mg de MVF) des géotypes sous différents régimes hydriques au 2^{ème} cycle de la 1^{ère} année d'étude

($P_{géotypes}=4,08e-05$ ***).

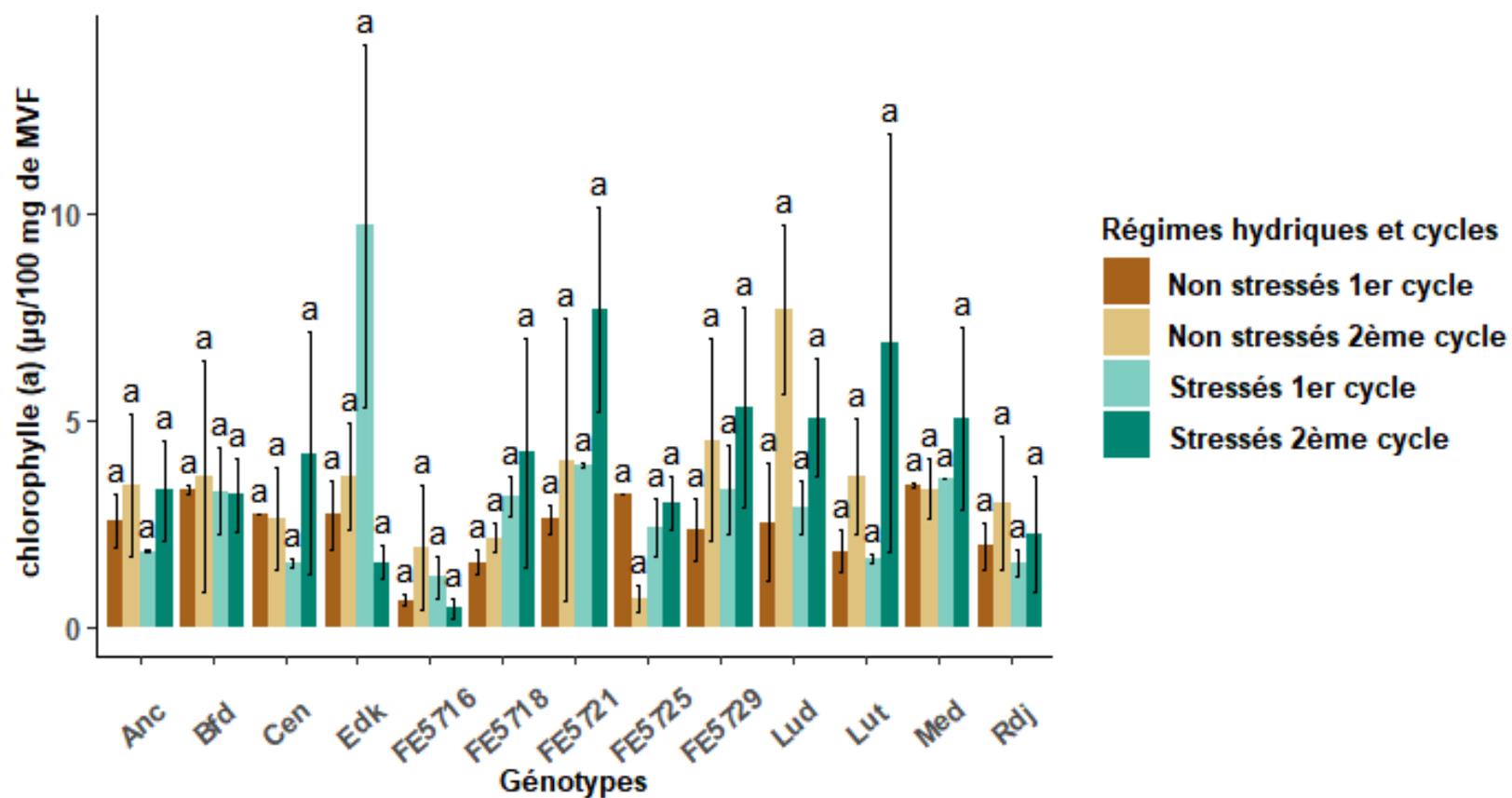


Figure 50: Variation des teneurs moyennes en chlorophylle (a) ($\mu\text{g} / 100\text{mg}$ de MVF) des génotypes sous différents régimes hydrique au cours de la 2ème année d'étude ($P_{cycles} = 0,03 *$).

➤ **La chlorophylle (b)**

Comme pour la chlorophylle (a), la synthèse de la chlorophylle (b) n'a pas été affectée par la restriction hydrique, bien au contraire nous avons enregistré une augmentation très nette des teneurs moyennes chez les génotypes stressés, qui ont accumulés des moyennes de l'ordre de 19,42 $\mu\text{g}/100\text{mg}$ de MVF ; alors que pour ceux conduits sans stress, elles sont en moyenne de l'ordre de 14,24 $\mu\text{g}/100\text{mg}$ de MVF.

Durant la première année, l'analyse de la variance a révélé des différences hautement significatives entre les génotypes et très hautement significatives entre les régimes hydriques, cette différence a fait que la population Rdj a été classée dans un groupe à part (A) où elle a enregistré la valeur la plus élevée en régime stressé (25,72 $\mu\text{g}/100\text{mg}$ de MVF) ; alors que la population FE5715, a donné la plus faible valeur à l'ETM (2,63 $\mu\text{g}/100\text{mg}$ de MVF) (Figure 51, Annexe 44).

Quant à l'année suivante, nous avons toujours noté une différence hautement significative pour le régime hydrique, très hautement significative pour le cycle et significative pour les interactions entre les deux. A l'inverse de la 1^{ère} année, la population Rdj a enregistré ici la plus faible valeur en régime stressé soit 4,69 $\mu\text{g}/100\text{mg}$ de MVF : tandis que la population FE5716, a donné la plus grande valeur soit 52,91 $\mu\text{g}/100\text{mg}$ de MVF toujours en régime stressé. Comme pour la chlorophylle (a) la chlorophylle (b) a connu une amélioration des teneurs pour tous les génotypes en 2^{ème} cycle (Figure 52, Annexe 45).

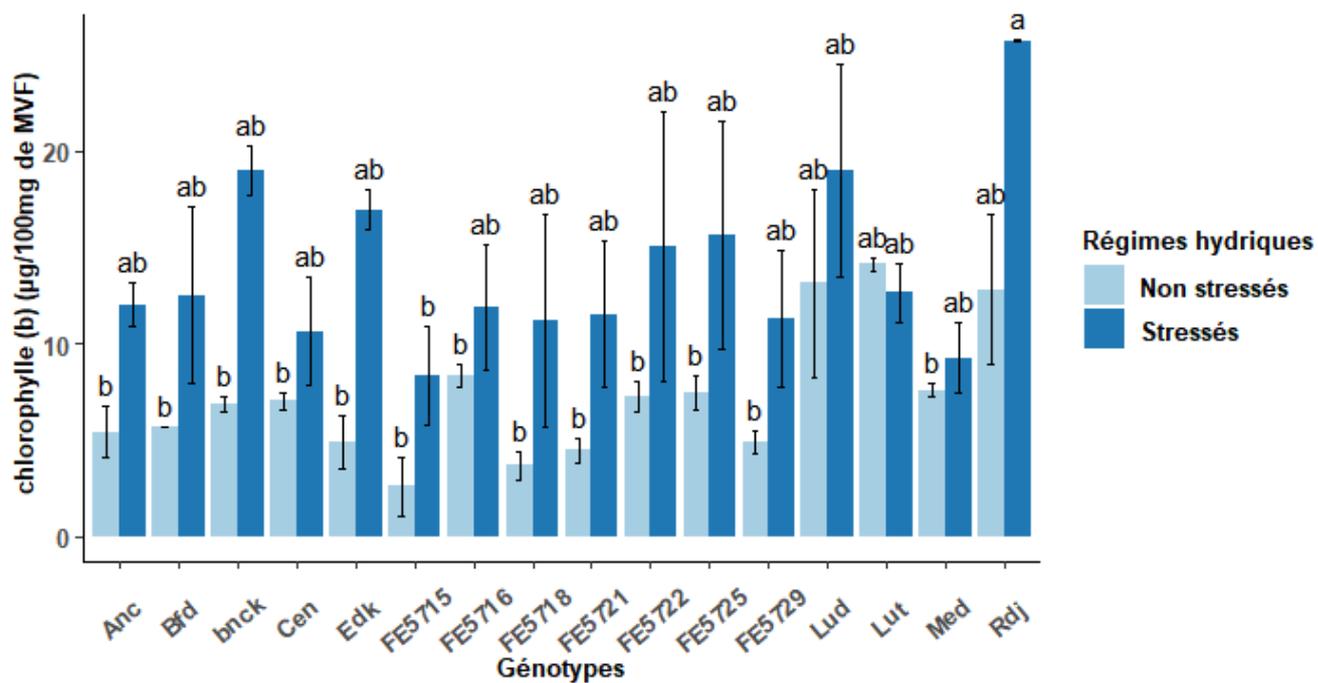


Figure 51 : Variation des teneurs moyennes en chlorophylle (b) ($\mu\text{g} / 100\text{mg}$ de MVF) des génotypes sous différents régimes hydriques au 2^{ème} cycle de la 1^{ère} année d'étude

($P_{\text{génotypes}}=0,002$ **; $P_{RH} = 1,99\text{e-}08$ ***).

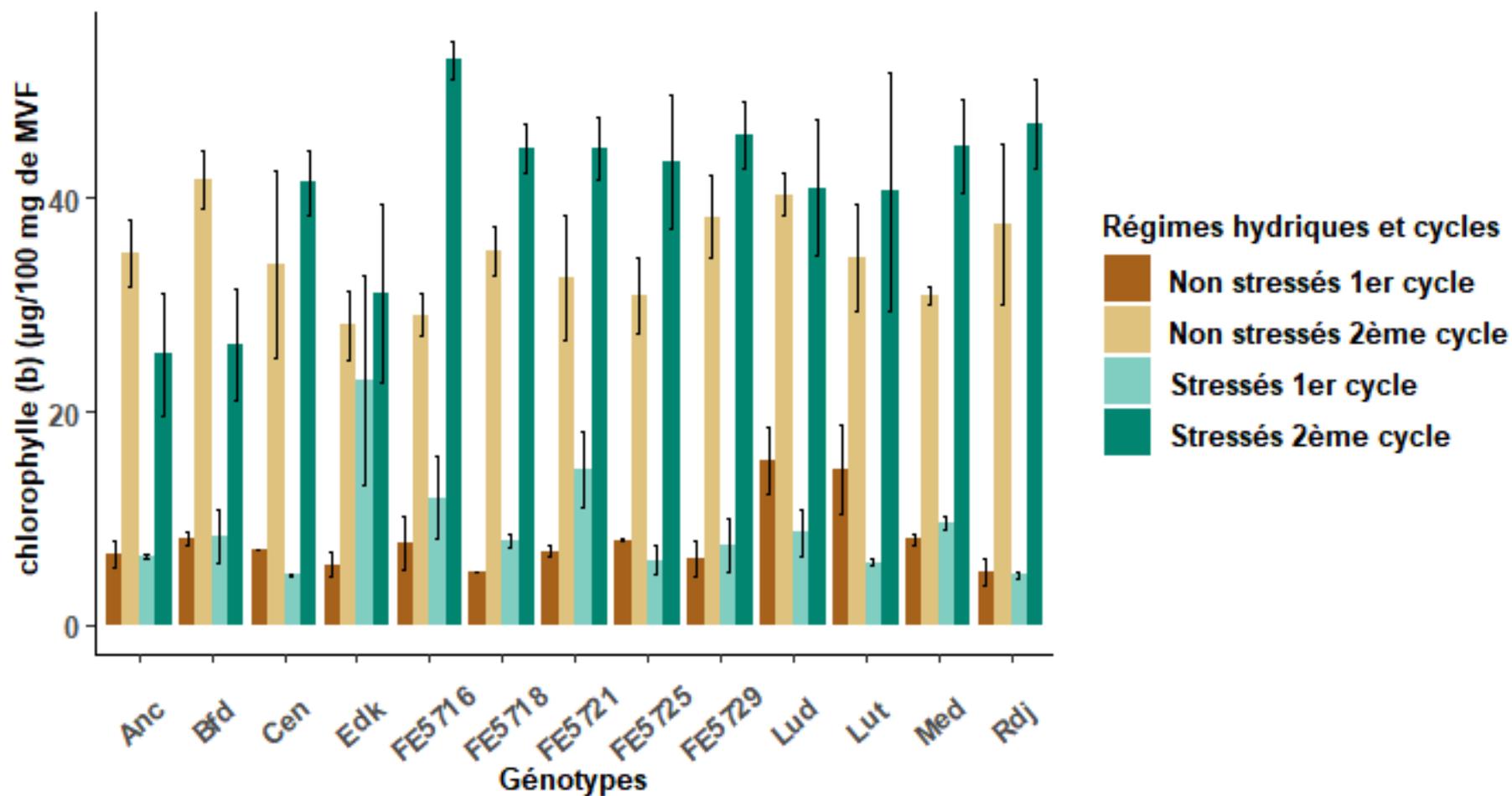


Figure 52 : Variation des teneurs moyennes en chlorophylle (b) ($\mu\text{g} / 100\text{mg}$ de MVF) des génotypes sous différents régimes hydriques au cours de la 2ème année d'étude ($P_{RH} = 0,00129 **$; $P_{cycles} = 0,002 **$; $P_{G \times RH \times C} = 0,04 *$).

La quantité de la chlorophylle des feuilles peut être influencée par beaucoup de facteurs tels que l'âge des feuilles, la position des feuilles, et les facteurs environnementaux tels que la lumière, la température et la disponibilité en eau (Hikosaka *et al.*, 2006).

En cas de sécheresse la photosynthèse peut être inhibée, cela est due à la fermeture des stomates, d'où la diminution de la diffusion interne du CO² dans les feuilles vers le site de carboxylation et éventuellement la diminution de la conductance de la mésophylle provoquées par la perte de turgescence et les signaux racinaires (Galmés *et al.*, 2007).

D'après nos résultats, nous avons constaté que l'application de la restriction hydrique n'a pas eu un effet significatif sur la synthèse de la chlorophylle a et b, bien au contraire le stress hydrique a eu un effet inverse chez l'ensemble des génotypes testés.

Nous avons aussi remarqué que la population de dactyle Rdj a accumulé les teneurs les plus élevées en chlorophylle (a) et (b) en première année, ses teneurs élevées en chlorophylle représentent un déterminant majeur de sa capacité photosynthétique sous un stress intense et cela est associé à sa tolérance à la sécheresse. Selon Pirnajmedin *et al.*, (2015), la sélection de génotypes, basée sur une teneur accrue ou stable en chlorophylle, peut empêcher la perte de rendement sous des conditions de stress hydrique. Malheureusement cette capacité n'a pas duré à l'année suivante et mérite encore plus de tests pour confirmer le comportement de nos génotypes en ce qui concerne la synthèse des chlorophylles a et b.

2.4 Action du stress hydrique sur l'accumulation des osmoregulateurs

2.4.1 Action sur l'accumulation de la proline

Les résultats obtenus sur les différents génotypes montrent que la restriction hydrique a induit une forte accumulation de proline pour tous les individus soumis au stress par rapport aux non stressés.

En première année, les génotypes ont réagi différemment au stress, en effet, l'analyse de la variance a révélé des effets hautement significatifs pour les génotypes et pour le régime hydrique, tandis que pour le cycle, aucune différence significative n'a été révélée (Annexe 46). Durant cette année la population Anouche (Anc) était la plus tolérante en accumulant les teneurs les plus élevées en proline sous stress que ce soit en 1^{er} ou en 2^{eme} cycle (108,49 et 83,97 µg / 100mg de MVF respectivement) ; par contre, la plus faible valeur

était enregistrée par la population Bone faid bouteldja (Bfd) conduite à l'ETM (3,95 μg / 100mg de MVF). Nous avons aussi constaté que l'accumulation de la proline diminue avec le temps où il y'a de fortes réductions des teneurs en 2^{ème} cycle par rapport au 1^{er} pour tous les génotypes à l'exception des génotypes FE5716, FE5721 et Rdj (Figure 53).

En deuxième année, nous n'avons pas enregistré des différences significatives entre les génotypes, par contre l'ANOVA a révélé des différences hautement significatives pour le régime hydrique et le cycle (Annexe 47) où nous avons noté une augmentation des teneurs de proline en 2^{ème} cycle pour tous les génotypes stressés contrairement à l'année précédente (Figure 54). Durant cette année, c'est la population FE5729 qui a accumulé la plus grande teneur sous stress hydrique (214,78 μg / 100mg de MVF) ; tandis que la population FE5721, était la moins résistante en enregistrant le taux le plus faible (30,14 μg / 100mg de MVF).

En analysant le pourcentage d'accroissement des teneurs en proline, il apparait que la population FE5721 a accumulé la teneur la plus élevée en 1^{ère} année (87,75%), alors qu'à l'année suivante, c'est la population FE5718 qui a pris sa place en enregistrant une valeur de 45,22%, ce qui pourrait être à l'origine de leur tolérance au stress hydrique, contrairement aux génotypes FE5729 et Ludac qui ont enregistré les teneurs les plus faibles (14,2% et 5,21%) (Figures 55,56).

L'analyse pour l'interaction des deux années a révélé des différences hautement significatives, en effet les teneurs moyennes en proline ont augmenté en deuxième année par rapport à l'année précédente, soit 39,44 μg /100mg de MVF contre 119,98 μg /100mg de MVF (Annexe 48).

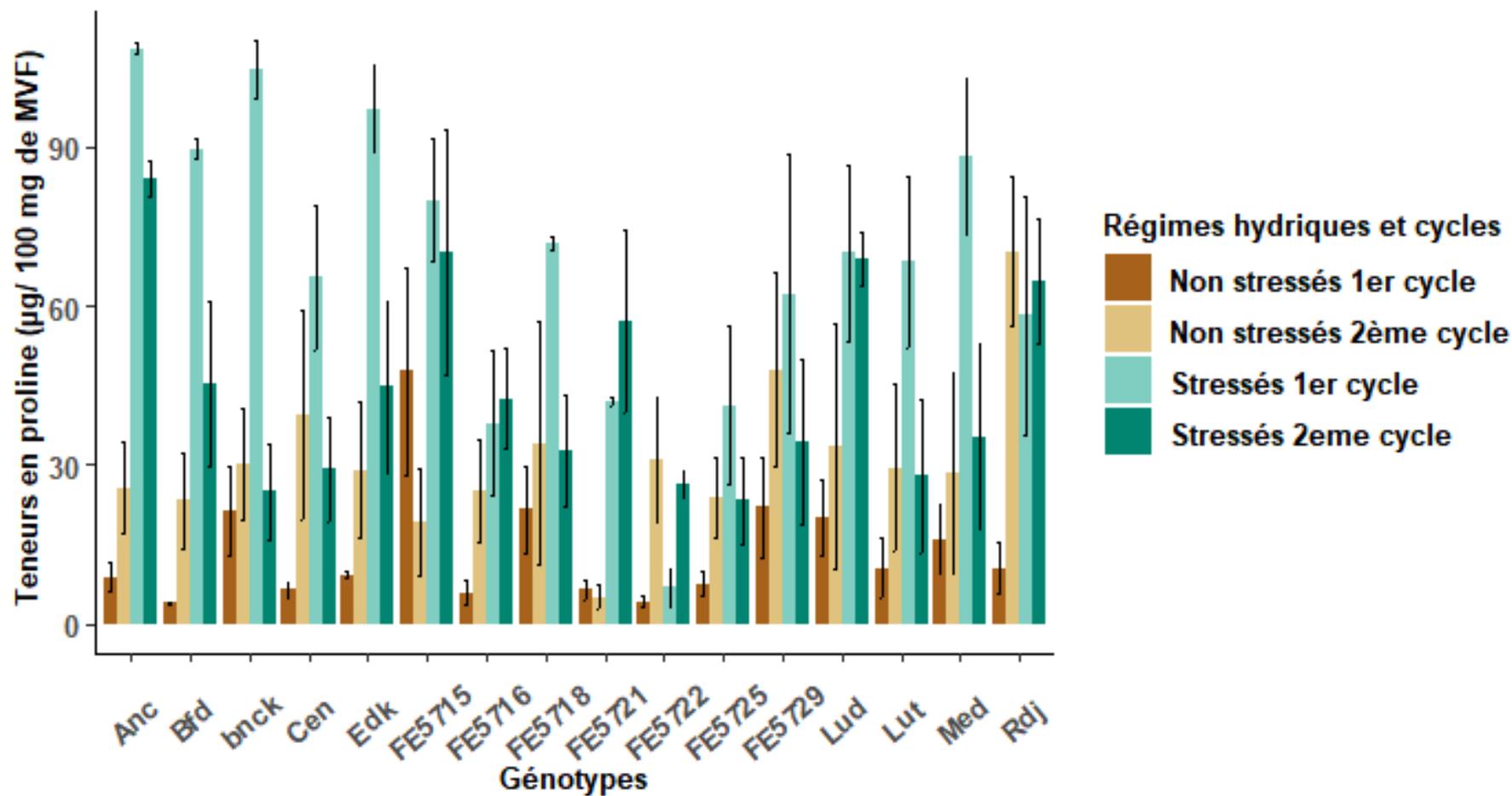


Figure 53 : Variation des teneurs moyennes en prolines accumulées ($\mu\text{g} / 100\text{mg}$ de MVF) par les génotypes sous différents régimes hydriques au cours de la 1ere année d'étude ($P_{\text{génotypes}}=0,0001$ *** ; $P_{RH} < 2e-16$ *** ; $P_{\text{cycles}} NS$; $P_{G \times RH \times C} NS$).

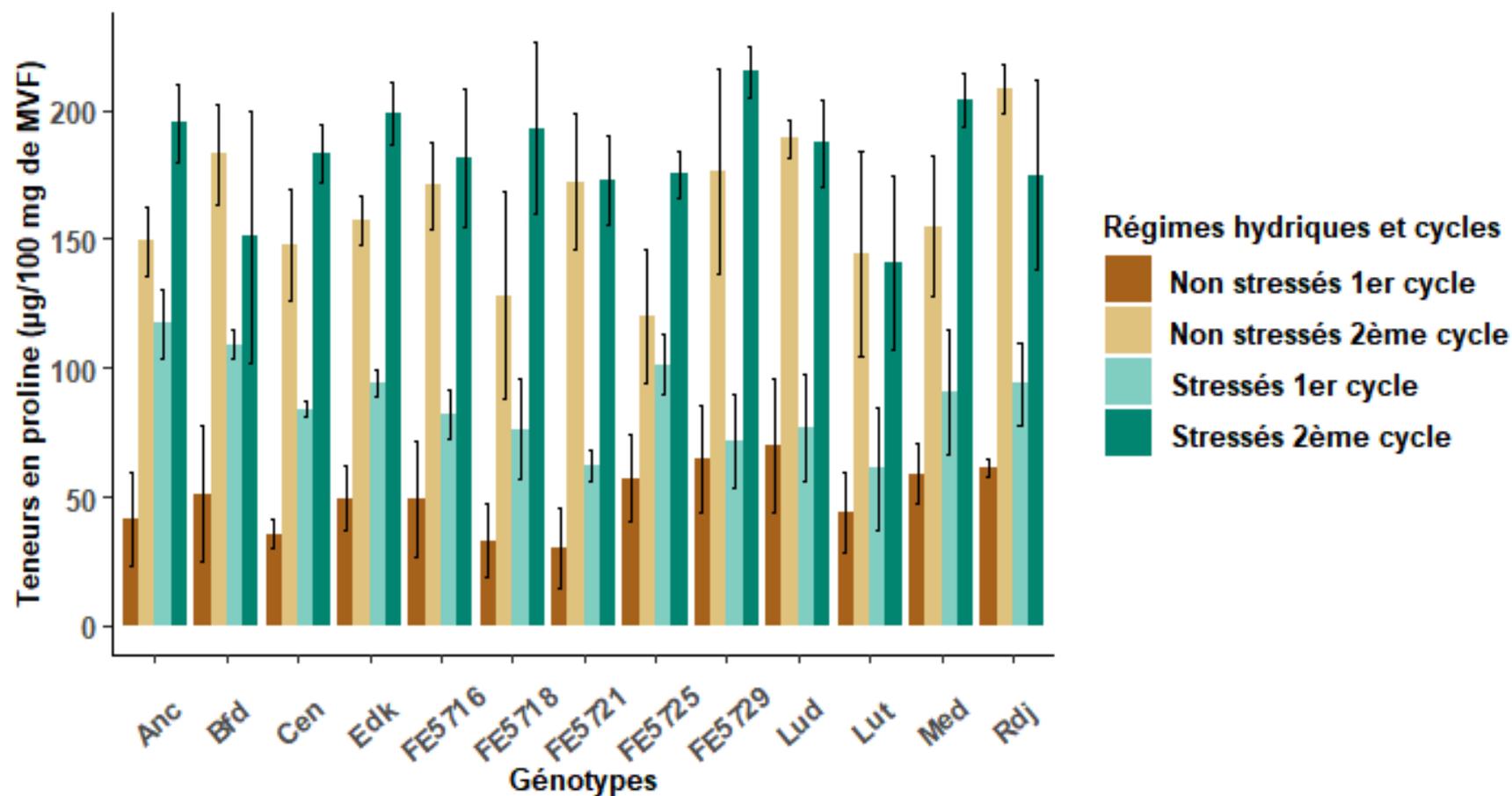


Figure 54 : Variation des teneurs moyennes de prolines accumulées ($\mu\text{g} / 100\text{mg}$ de MVF) par les génotypes sous différents régimes hydriques au cours de la 2ème année d'étude ($P_{\text{génotypes}} = NS$; $P_{RH} = 3,98\text{e-}06$ *** ; $P_{\text{cycles}} < 2\text{e-}16$ *** ; $P_{G \times RH \times C} = NS$).

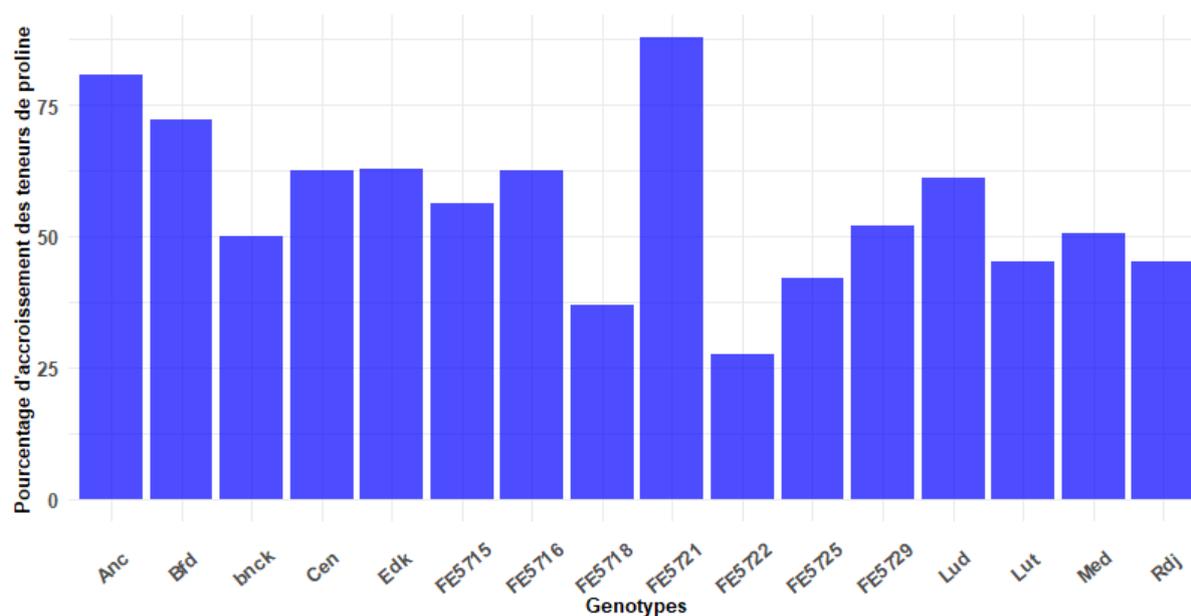


Figure 55 : Pourcentage d'accroissement des teneurs en proline pour tous les génotypes en première année d'étude.

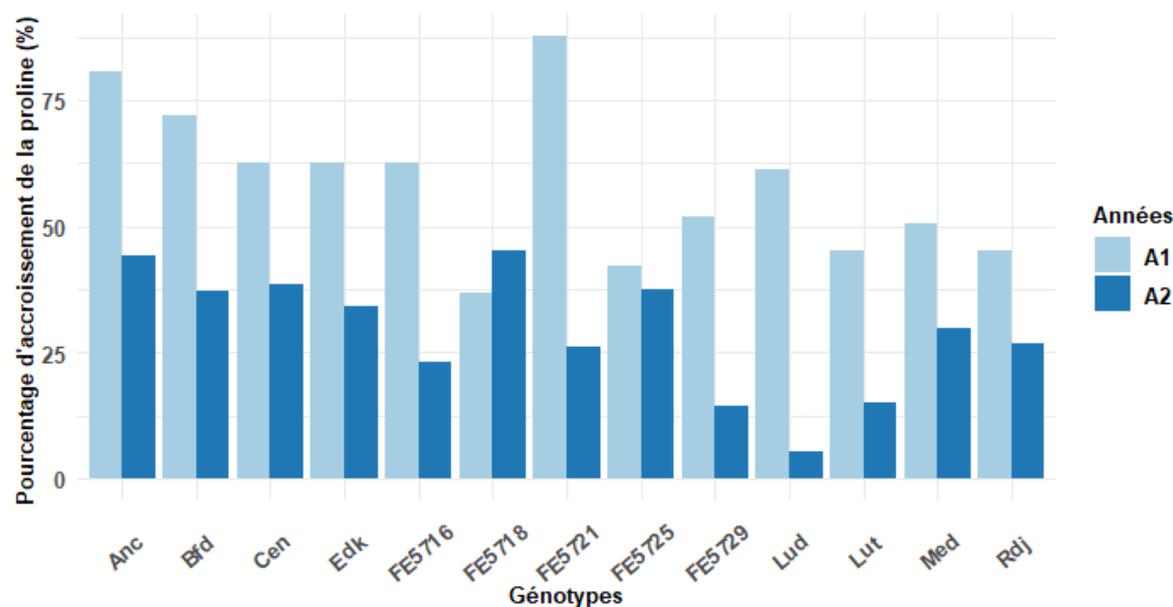


Figure 56 : Comparaison du pourcentage d'accroissement des teneurs en proline pour tous les génotypes entre la première (A1) et la deuxième (A2) année d'étude.

Dans la présente étude, l'application de la restriction hydrique sur tous les géotypes a induit des changements de la quantité en proline de deux façons :

- Le premier changement correspond à une augmentation du taux de proline au premier cycle pour tous les géotypes.
- Le deuxième changement correspond à une diminution de la quantité de proline observable dès que la durée d'application du stress se prolonge, seulement en deuxième année ce changement n'a pas été observé (Figures 53,54).

Man *et al.*, (2011) mentionnent que le stress hydrique réduit de la qualité du fourrage de fétuque, de la teneur relative en eau foliaire et augmente la teneur de la proline et de l'ABA, donc l'accumulation de la proline est suggestive de la présence d'un phénomène d'adaptation au stress (Mefti, 2012).

Selon Benadjaoud and Aid (2012), l'augmentation de la teneur en proline est positivement corrélée avec le maintien du niveau assez élevé des teneurs relatives en eau des plantes, car un niveau plus élevé en proline libre contribue efficacement au maintien de la turgescence cellulaire et constitue un supplément nutritif et énergétique à la distribution de l'azote et du carbone durant la croissance et le développement des plantes et confère aux jeunes cellules un support mécanique comme constituant majeur des protéines de structure de la paroi cellulaire. La proline paraît donc un osmorégulateur qui s'accumule d'une façon réversible chez les plantes exposées à une contrainte hydrique.

2.4.2 Action sur l'accumulation des sucres solubles totaux

L'accumulation de sucres solubles totaux n'a pas été affecté par la restriction hydrique au cours de la première année ; en effet, l'ANOVA n'a révélé aucune différence significative que ce soit entre les géotypes ou entre régimes hydriques (Annexe 49), tandis que le cycle a connu une différence hautement significative, où nous avons remarqué que les teneurs en sucres solubles diminuent avec le temps pour les individus stressés sauf pour une minorité (Figure 57). Durant cette année la population FE5721 conduite sous stress a accumulé la plus grande valeur en 1^{er} cycle (36,03 µg/100mg de MVF), alors que la population FE5715 conduite à l'ETM a donné les plus faibles valeurs en 2^{eme} cycle (7,06 µg/100mg de MVF).

Quant à la deuxième année, le stress hydrique a induit des différences significatives entre les génotypes et entre les régimes hydriques et des différences hautement significatives entre les cycles (Annexe 50), Contrairement à l'année précédente, ici en 2^{ème} cycle les génotypes conduits sous stress hydrique ont connu une augmentation des teneurs en sucres solubles sauf pour certains. La population Bfd semble être la plus tolérante car elle a accumulé la plus grande teneur en sucres totaux en 1^{er} cycle (77,88 µg/100mg de MVF) d'où son classement dans un groupe séparé (A), alors que le cultivar Centurion conduit à l'ETM a donné la plus petite valeur (6,82 µg/100mg de MVF) (Figure 58).

L'analyse de l'interaction des deux années a enregistré des différences hautement significatives, et cela est confirmé par les différences entre les moyennes enregistrées (Annexe 51). En effet, la 2^{ème} année a connu un accroissement dans les teneurs de sucres totaux accumulées qui étaient en moyenne de l'ordre de 30,54 µg/100mg de MVF contre 17,63 µg/100mg de MVF lors de la 1^{ère} année.

Pour ce qui est du pourcentage d'accroissement des teneurs en sucres solubles des 2 années d'étude, nous avons constaté la non stabilité de la population FE5729 car cette population a accumulé les plus grandes teneurs en 1^{ère} année alors que lors de l'année suivante c'était le contraire (Figures 59,60).

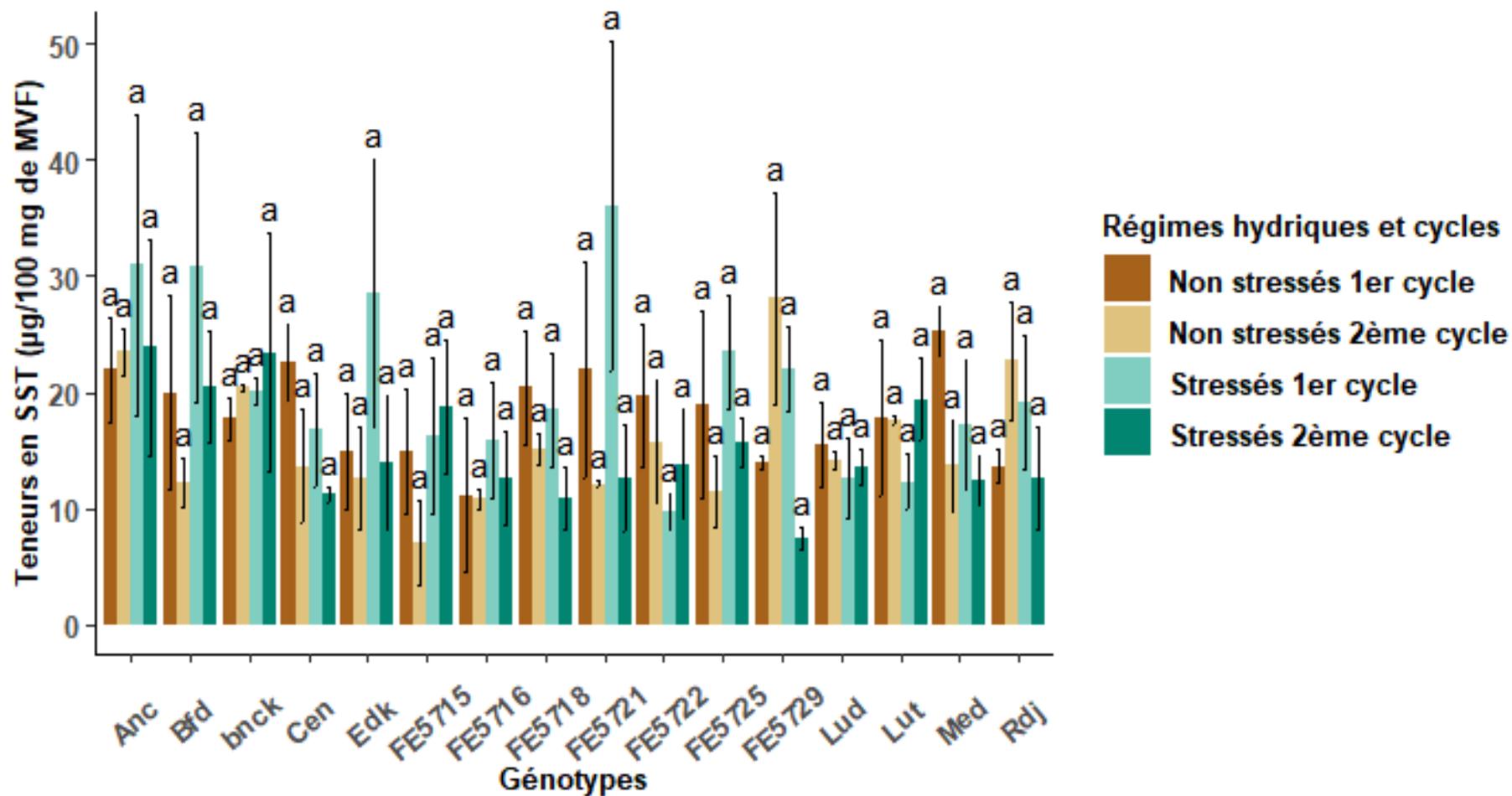


Figure 57 : Variation des teneurs moyennes en sucres solubles totaux accumulées ($\mu\text{g} / 100\text{mg}$ de MVF) par les génotypes sous différents régimes hydriques au cours de la 1ere année d'étude ($P_{\text{génotypes}}=NS$; $P_{RH} = NS$; $P_{\text{cycles}} = 0,004$ ** $P_{G \times RH \times C NS}$).

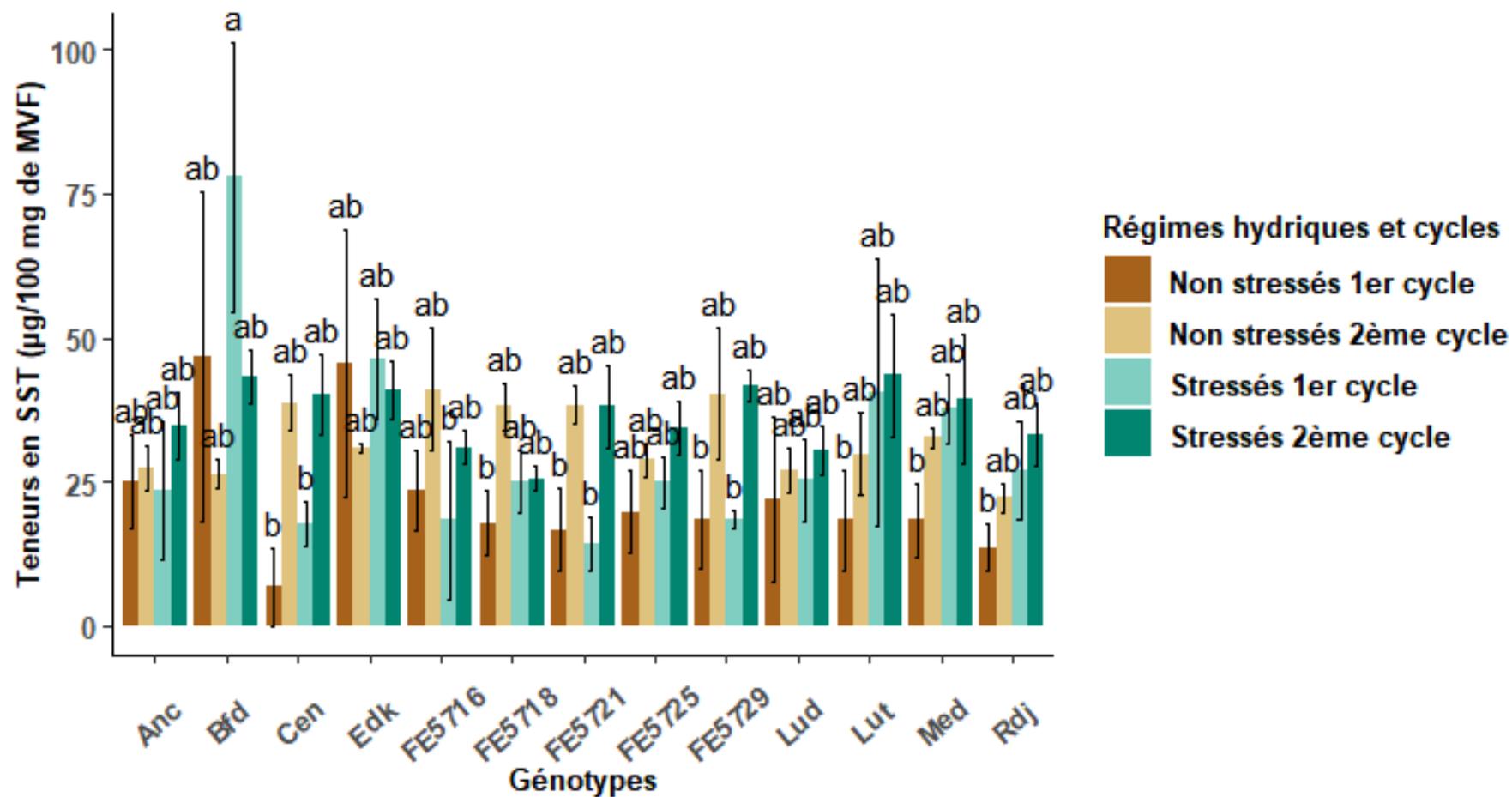


Figure 58 : Variation des teneurs moyennes en sucres solubles totaux accumulées ($\mu\text{g} / 100\text{mg}$ de MVF) par les génotypes sous différents régimes hydriques au cours de la 2ème année d'étude ($P_{\text{génotypes}}=0,022 *$; $P_{RH} = 0,023 *$; $P_{\text{cycles}} = 0,003 **$; $P_{G \times RH \times C} \text{ NS}$).

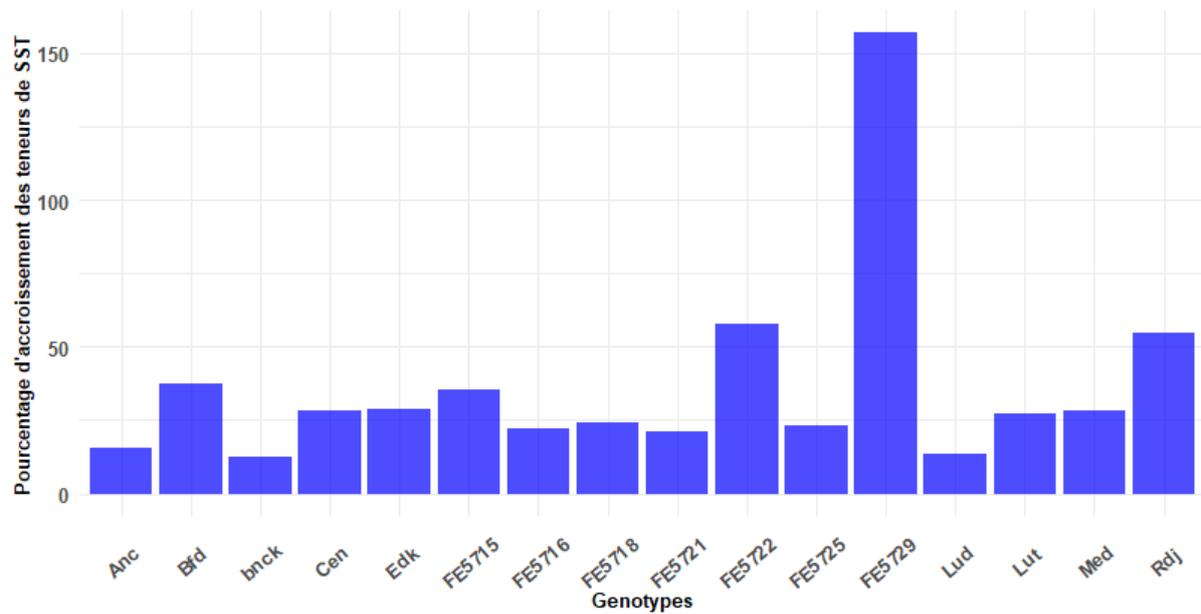


Figure 59 : Pourcentage d'accroissement des teneurs en sucres solubles totaux (SST) pour tous les génotypes en première année d'étude.

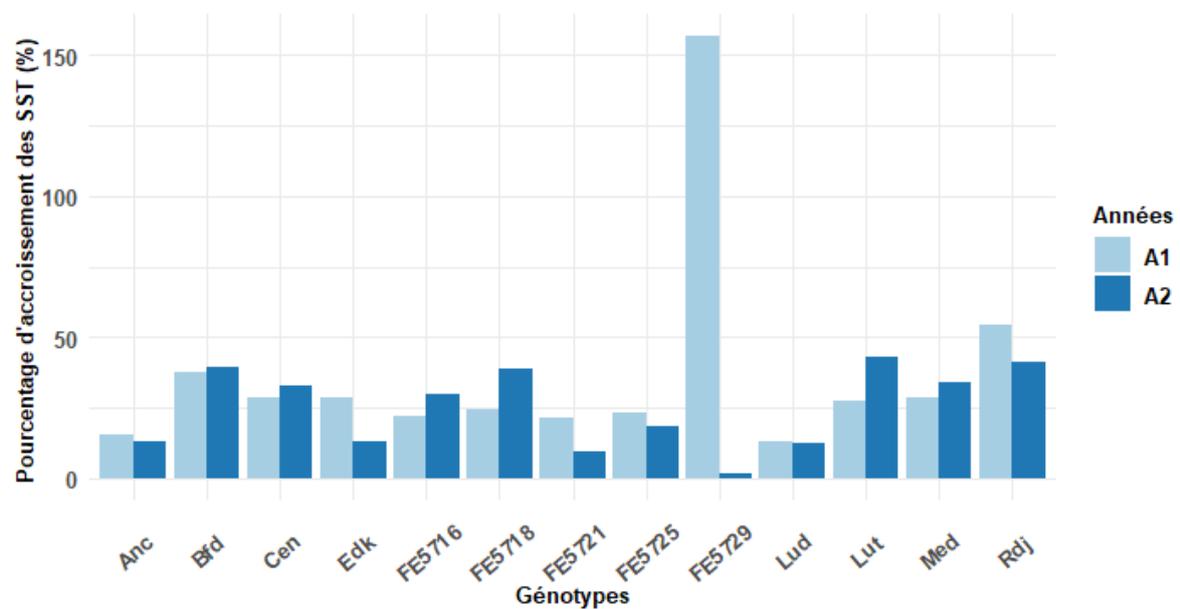


Figure 60 : Comparaison du pourcentage d'accroissement des teneurs en sucres solubles totaux (SST) pour tous les génotypes entre la première (A1) et la deuxième (A2) année d'étude.

En conditions déficitaires en eau les génotypes ont accumulé des teneurs élevés en sucres solubles au niveau cellulaire, ce mécanisme adaptatif aide à maintenir un gradient favorable de potentiel hydrique dans le système sol-plante-air. Il permet de maintenir une absorption d'eau suffisante à partir d'un sol relativement sec pour soutenir l'activité photosynthétique et la transpiration (Volaire *et al.*, 1998; Mastrangelo *et al.*, 2012) et donc cela permet aux génotypes testés un meilleur évitement de la déshydratation et une plus grande tolérance à la déshydratation grâce à leur implication dans l'ajustement osmotique et la stabilisation de la membrane cellulaire.

Dans les conditions de notre expérimentation, nous avons aussi noté qu'en première année les génotypes de dactyles et de fétuques élevées réduisent la synthèse de la proline en deuxième cycle par contre ils assurent leur ajustement par la production de sucres solubles et cela a été confirmé par le test de corrélation de Pearson, où nous avons trouvé une corrélation négative entre l'accumulation de la proline et celle de sucres solubles ($R = -0,23$, $P = 0,39$) (Annexe 52 A). Lors de l'année suivante par contre, nous n'avons pas noté une réduction des teneurs de proline en 2^{ème} cycle, et donc les génotypes ont assuré leur ajustement par l'accumulation des deux solutés organiques à la fois d'où la corrélation positive de leurs accumulations ($R = 0,24$, $P = 0,43$) (Annexe 52 B).

3 Classification des génotypes et Analyse en composantes principales (ACP).

Pour caractériser la relation entre les différents individus de dactyle et de fétuque élevée conduits sous serre, un dendrogramme basé sur les distances euclidiennes a été construit (Annexe 53) en utilisant la méthode de classification (UPGMA).

La classification a révélé deux groupes majeurs constitués chacun par deux sous-groupes (Figure 61)

5. Le premier sous-groupe est constitué des cultivars de dactyle Medly (Med) et Ludac (Lud) et de la population Ruines de djemila (Rdj).
6. Le deuxième sous-groupe renferme le cultivar Lutine (Lut) et la population FE5729.
7. Le troisième sous-groupe est composé des populations de dactyle Bone faid bouteldja (Bfd), El adaiek (Edk) et Anouche (Anc).
8. Le quatrième sous-groupe inclus le cultivar et les populations de fétuques élevées Centurion (Cen), FE5716, FE5725, FE5718 et FE5721.

L'analyse en composantes principales (ACP) a confirmé les résultats de la classification, où les génotypes ont été classés en 4 clusters, elle a montré que les deux premiers axes expriment 58,25 (%) de la variabilité totale, soit 31,53 (%) pour le 1^{er} axe et 26,72 (%) pour le 2^{ème}. L'axe 1 est corrélé positivement avec les variables suivants : surface foliaire (SF), sucre solubles, stabilité membranaire (SM) et teneur relative en eau (TRE) et négativement avec proline, chlorophylle totale (a+b) et biomasse aérienne sèche (BAS). Quant à lui, l'axe 2 est corrélé négativement avec la teneur relative en eau (TRE) et la proline et positivement avec le reste de variables (Figure 62).

L'axe 1 oppose des individus tels que Anc, Bfd et Edk, caractérisés par une coordonnée fortement positive sur l'axe) à des individus comme Rdj, Lud et Med (à gauche du graphe, caractérisés par une coordonnée fortement négative sur l'axe).

Le groupe 1 auquel les individus Rdj, Lud et Med appartiennent partage :

- ✓ De fortes valeurs de proline et de faibles valeurs pour la variable stabilité membranaire.

Le groupe 4 auquel les individus Anc, Bfd et Edk appartiennent partage :

- ✓ De fortes valeurs pour les variables sucre solubles totaux et teneur relative en eau.
- ✓ De faibles valeurs pour la variable chlorophylle totale (a+b).

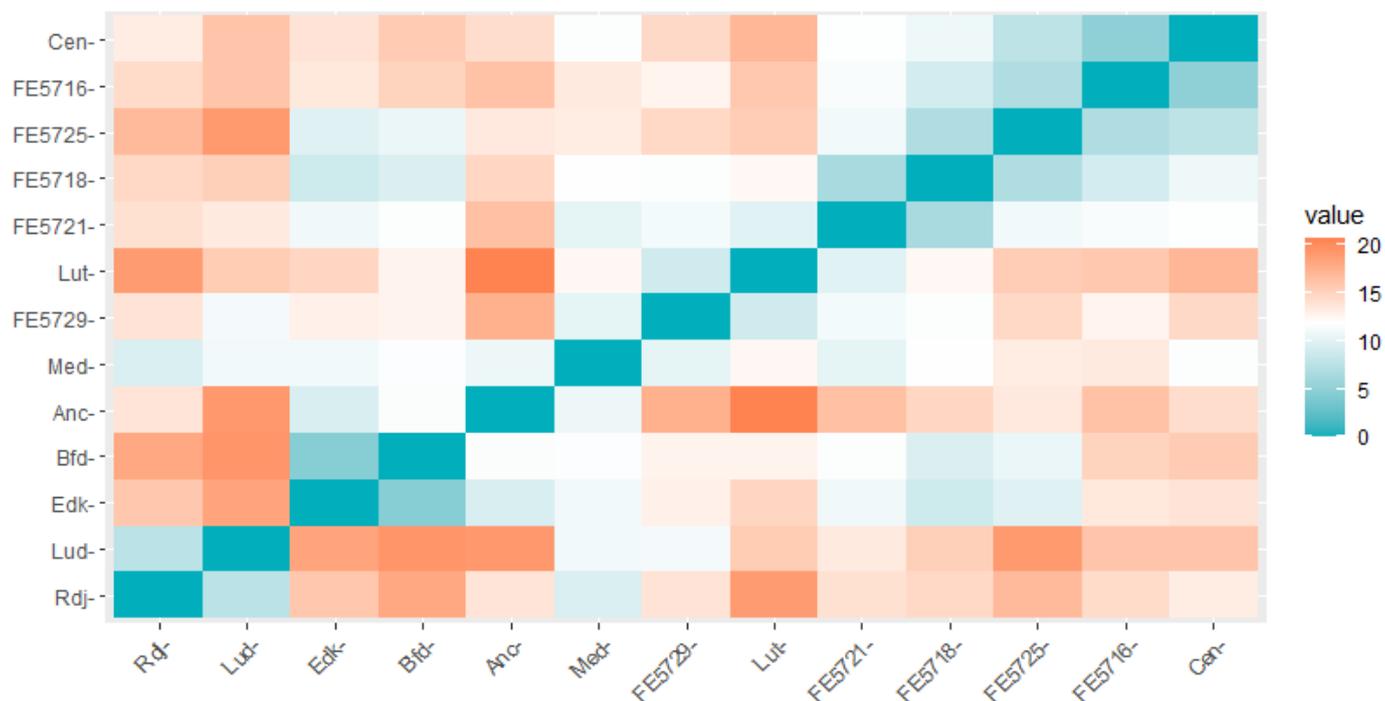
L'axe 2 distingue particulièrement des individus tels que Lut et FE5729, caractérisés par une coordonnée fortement positive sur l'axe et les individus FE5716, FE5725, FE5718, FE5721.

Le groupe 2 auquel les individus Lut et FE5729 appartiennent partage :

- ✓ De fortes valeurs de la surface foliaire (SF) et de chlorophylle totale (a+b)

Le groupe 3 auquel les individus Cen, FE5716, FE5725, FE5718 et FE5721 appartiennent partage :

- ✓ De fortes valeurs de la stabilité membranaire (SM) et de la biomasse aérienne sèche (BAS).



Cluster Dendrogram

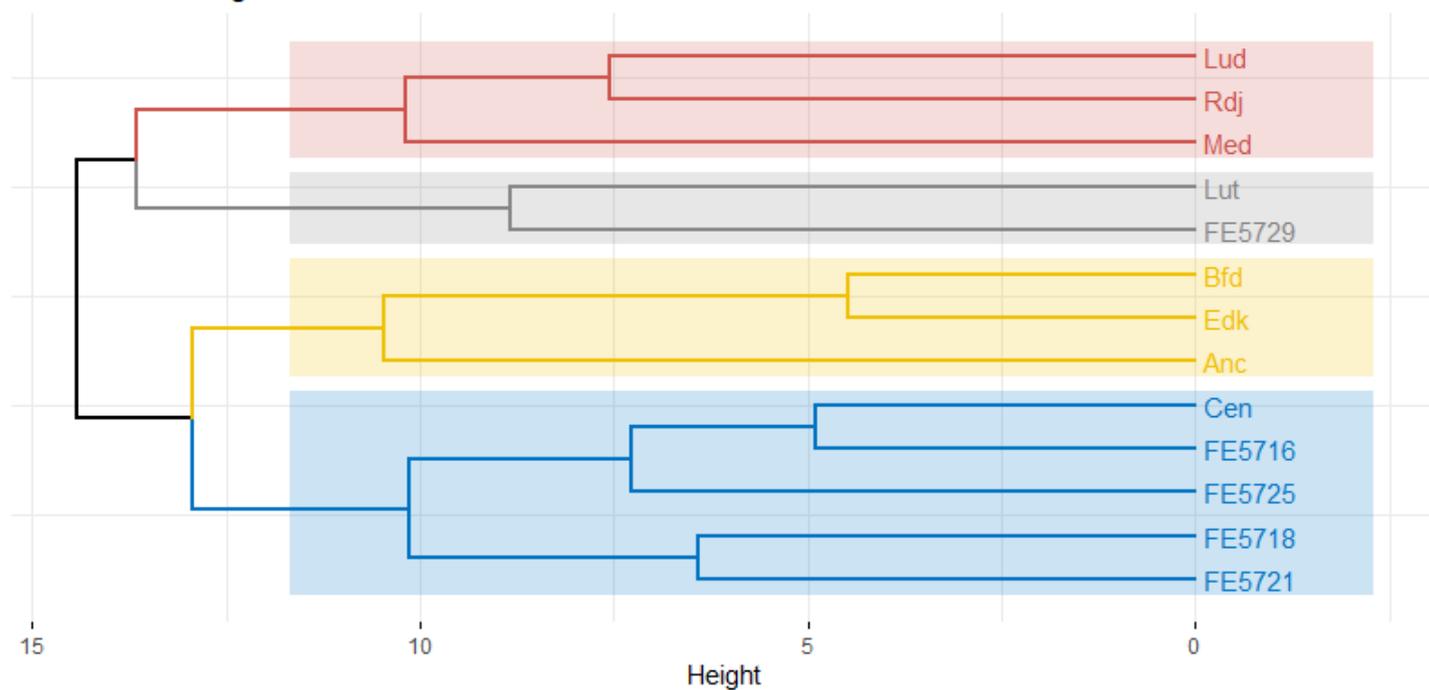


Figure 61 : Dendrogramme des génotypes de dactyle et de fétuque élevée selon la méthode UPGMA.

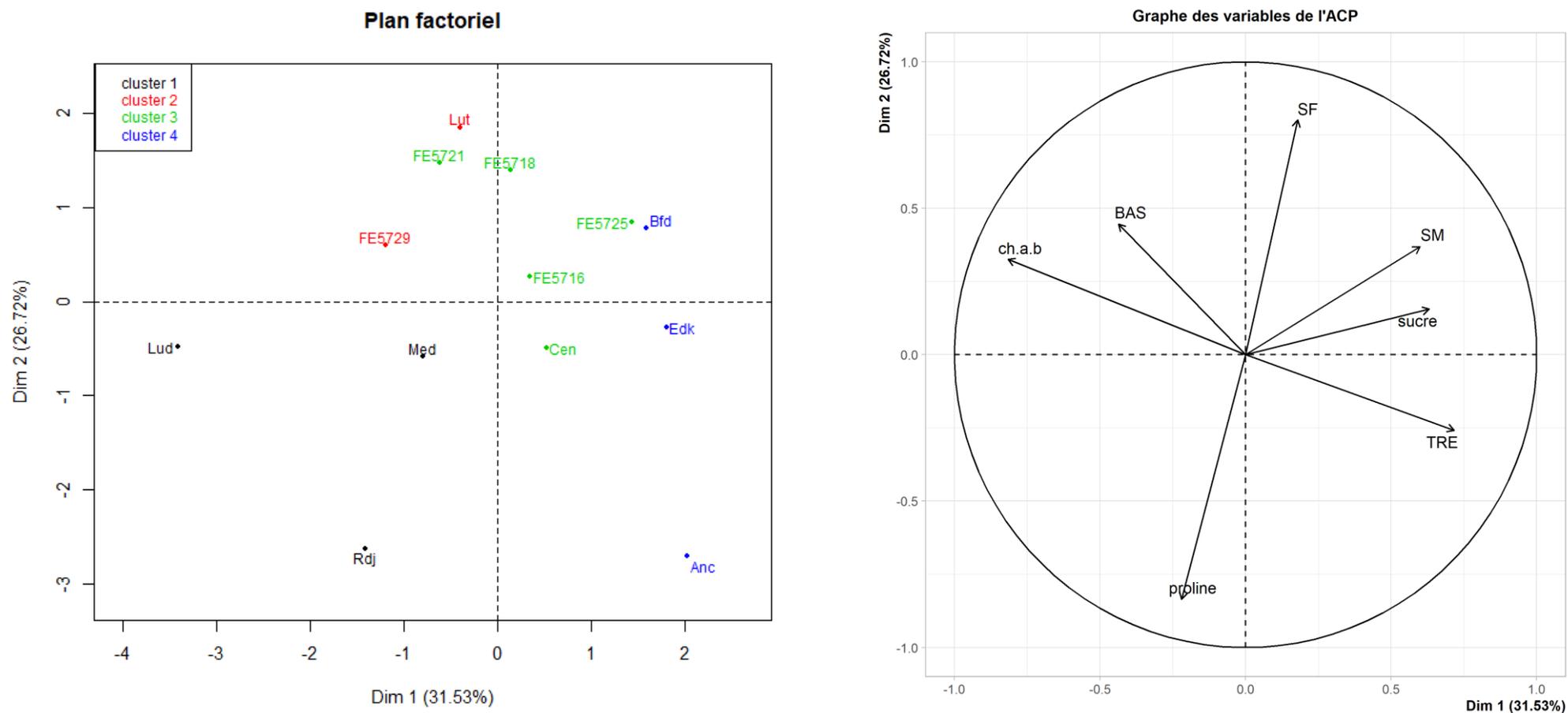


Figure 62 : Analyse en composantes principales (ACP) des variables et des génotypes de dactyle et de fétuque élevée.

Conclusion

Les changements climatiques actuels renforcent l'urgence de développer des cultivars qui seront mieux adaptés aux conditions climatiques du bassin méditerranéen caractérisées par les sécheresses estivales intenses ; cependant, le développement des cultivars d'espèces fourragères pérennes qui sont adaptés à la sécheresse, sont malheureusement rares (<2 %) (Volaire *et al.*, 2013).

Les populations naturelles des espèces fourragères d'origine méditerranéennes représentent des ressources génétiques d'importance mondiale pour l'amélioration de demain (Volaire *et al.*, 2013), ces populations présentent l'intérêt d'être les mieux adaptées à la sécheresse en présentant une extrême variabilité interspécifique. Elles ont tendance à se mettre en dormance en été, ce qui leur confère une survie exceptionnelle à la sécheresse (Volaire and Norton, 2006).

Dans le présent travail, des populations algériennes de dactyle et de fétuque élevée ainsi que des cultivars d'origine variées ont fait l'objet d'une étude de comportement et de la tolérance à la sécheresse pour deux compagnes agricoles. A travers les résultats obtenus, on peut constater que l'application d'une contrainte hydrique se manifeste chez l'ensemble des génotypes étudiés par des modifications morpho-physiologiques et biochimiques en réponse au stress appliqué.

Parmi les variables les plus affectées par la contrainte hydrique figurent la surface foliaire, la teneur relative en eau, la biomasse aérienne et racinaire. Ces variables ont révélé par une analyse statistique des différences significatives à hautement significatives entre les plantes témoins et plantes stressés. Le stress hydrique réduit considérablement ces paramètres, mais il permet une forte accumulation des sucres solubles et de proline chez l'ensemble des génotypes étudiés.

Il est à noter aussi qu'il existe un large éventail de variabilité entre les génotypes évalués des deux espèces d'un cycle appliqué à l'autre. En effet, l'application d'un deuxième cycle révèle intéressante dans cette étude où nous avons remarqué une différente réaction dans le comportement des individus stressés par rapport au premier cycle, à titre d'exemple les teneurs relatives en eau se sont fortement augmentées dans les cellules pour l'ensemble des

individus. L'application d'un deuxième cycle a aussi confirmé l'instabilité de certains géotypes face à la restriction hydrique, tel est le cas du cultivar Centurion qui a présenté une stabilité membranaire intéressante en 2^{ème} cycle lors de la première année d'expérimentation (90%), en deuxième année par contre, ce cultivar n'a pas présenté le même résultat où la population de fétuque élevée FE5721 a pris sa place en deuxième cycle (50,54%).

La diversité entre les géotypes testés a montré l'intérêt d'une 2^{ème} année d'expérimentation qui s'est apparue comme primordiale afin d'analyser de plus le comportement de ces géotypes.

Au cours de la 2^{ème} année d'expérimentation, nous avons constaté une amélioration de la surface foliaire, de l'accumulation de la biomasse aérienne ainsi qu'un accroissement des teneurs en proline et en sucres solubles totaux pour l'ensemble des géotypes testés ; à titre d'exemple, les teneurs en proline ont passé de 39,44 µg / 100mg de MVF en première année à 119,98 µg / 100mg de MVF en deuxième année. Cette année a aussi confirmé la non tolérance de certains géotypes au stress hydrique, tel que le cas du cultivar Ludac qui a enregistré les taux de régression de la stabilité membranaire les plus élevés et cela pour les deux années, soit 71,03% et 67,53% respectivement, ainsi que le pourcentage de régression de la biomasse aérienne sèche le plus grand (63,59%).

La diminution de la surface foliaire, des teneurs en eau et de la biomasse aérienne sèche était marquée chez les géotypes Ludac, Medly et la population FE5729. Le cultivar Medly a donné la plus faible surface foliaire (26,42 cm²) ainsi que le pourcentage de régression le plus élevée (39,37 %) en 2^{ème} année d'expérimentation, ce qui explique sa sensibilité à la sécheresse.

La population de dactyle Ruines de djemila (Rdj) a présenté un comportement différent d'une année à l'autre en matière de synthèse des pigments chlorophylliens où elle a accumulé les teneurs les plus élevées en chlorophylle (a) et (b) en première année ; par contre, lors de l'année suivante, elle était la plus sensible en enregistrant les teneurs les plus faibles. En revanche, en matière d'accumulation biomasse aérienne sèche, cette population a enregistré le pourcentage de régression le plus faible pour les deux années d'étude (1,12%).

Les populations de dactyles Bone faid bouteldja (Bfd), El adaiek (Edk) et Anouche (Anc) semblent être intéressantes où elles ont montré un comportement intéressant en conditions

déficitaires en eau d'où leurs apparition dans un groupe à part lors de la classification basée sur la méthode (UPGMA).

Les individus de la population Bone faid bouteldja (Bfd), soumis au stress hydrique, ont accumulés en moyenne les teneurs en sucres solubles totaux les plus élevées au cours des deux années d'études (43,06 μg / 100mg de MVF), cette population a aussi présenté un pourcentage de régression de la stabilité membranaire le plus faible (21,75%).

Les individus soumis au stress de la population de dactyle Anouche (Anc) ont présenté en moyenne de fortes teneurs relatives en eau au cours des deux années d'expérimentation (43,51%), cette population a accumulé la plus grande biomasse racinaire en régime stressant (18,01g) et a présenté le plus faible taux de régression (41,46%) ainsi que le ratio biomasse racinaire/aérienne sèches le plus élevée (1,68) ; il en est de même pour les populations de dactyle qui ont présenté le ratio le plus élevée parmi tous les génotypes (0,9).

Ces résultats montrent que le matériel d'origine algérienne est un modèle d'étude pertinent pour identifier les limites de la variabilité intra spécifique à l'adaptation aux stress hydrique croissant et représente ainsi une ressource génétique à valoriser dans les schémas d'amélioration, et ce dans l'objectif de créer des variétés combinant une gamme de stratégies d'adaptation aux changements climatiques tout en préservant de bonnes performances agronomiques.

Chapitre IV

Caractérisation moléculaire des populations de dactyle (*Dactylis glomerata* L.) et de fétuque élevée (*Festuca arundinacea* Schreb.) : détermination du niveau de ploïdie et analyse de la diversité génétique par génotypage par séquençage (GBS).

Introduction

L'Algérie, par la diversité de ses milieux et de ses terres, constitue une immense ressource d'espèces végétales notamment celles d'intérêt pastorale et fourragère telles que les graminées fourragères (Abdelguerfi *et al.*, 2008). Ces espèces présentent une diversité naturelle très particulière parmi les espèces végétales de cette région qui les soumettent à une amélioration génétique naturelle (Sampoux *et al.*, 2013). Malgré leur diversité et notamment leurs adaptations aux contraintes locales (à la fois biotiques et abiotiques), elles n'ont pas été bien caractérisés ou utilisés dans l'amélioration des pâturages (Abdelguerfi, 2004).

À l'heure actuelle, certains défis ont contribué significativement à la diminution de la production du fourrage en Algérie, à savoir le manque énorme de semences et l'absence des encouragements pour la sélection et le développement de nouveaux cultivars de graminées fourragères. Peu d'études ont été menées en Algérie que ce soit pour évaluer les variétés de graminées pérennes (Mefi *et al.*, 2016), ou pour évaluer la diversité génétique des écotypes locaux et d'identifier et sélectionner ceux bien adaptés aux conditions nord-africaines.

L'étude de la diversité génétique est un moyen pour caractériser et sélectionner des populations uniques et intéressantes de graminées. La connaissance du niveau de ploïdie est également importante à savoir afin d'éviter les croisements interploïdiques qui donneraient des semences de mauvaise qualité.

L'avancée dans les méthodes de séquençage a augmenté l'efficacité et la robustesse de caractérisation des marqueurs moléculaires même pour les cultures non modèles. La technique de génotypage par séquençage (GBS) devient progressivement plus populaire car elle permet à une fraction du génome d'être séquencé et comparé pour plusieurs individus (Elshire *et al.*, 2011) et de générer un grand nombre de polymorphismes nucléotidiques SNP (Single Nucleotide polymorphism) (Hand *et al.*, 2012b).

La présente étude a pour but d'appliquer le génotypage par séquençage en combinaison avec le logiciel bioinformatique UNEAK afin d'identifier à l'échelle du génome les marqueurs SNP et d'évaluer la diversité génétique au sein et entre les populations algériennes et les cultivars de dactyle (*Dactylis glomerata* L.) et de fétuque élevée (*Festuca arundinacea* Schreb.).

Matériels et méthodes

1. Le matériel végétal

Le matériel végétal étudié dans ce chapitre est composé de 4 populations de dactyle, 3 populations de fétuque élevée ainsi que 4 cultivars des deux espèces, qui ont été utilisés comme référence, il s'agit de :

- Ruines de djemila (Rdj), Anouche (Anc), El adaiék (Edk), Bone faid bouteldja (Bfd), Medly (Med) et Ludac (Lud) pour l'espèce Dactyle (*Dactylis glomerata* L.)
- FE5718, FE5725, FE5729, Centurion (Cen) et Lutine (Lut) pour l'espèce fétuque élevée (*Festuca arundinacea* Schreb).

Le détail des génotypes ainsi que leurs origines sont déjà décrits dans le chapitre I

L'analyse moléculaire des génotypes ainsi que la détermination du niveau de ploïdie ont été réalisées au niveau du laboratoire de recherche « Forage and Range Research Laboratory » (FRRL - USDA-ARS, USA). Les graines de chaque génotype ont été germées et cultivées pendant six semaines au niveau de la serre du laboratoire sous les conditions de croissance suivantes : 14 h de photopériode à 22 ° C et 10 h d'obscurité à 16 ° C. Les jeunes feuilles ont été récoltées et stockées à -80 ° C et lyophilisées avant l'extraction d'ADN.

Douze à seize plantes de chaque population ou cultivar ont été utilisés pour l'extraction d'ADN, à l'exception de l'accession FE5718, dont seulement six plantes ont été germées et collectées.

2. Analyse de la ploïdie par cytométrie en flux

2.1 Principe d'analyse

la cytométrie en flux consiste à estimer le niveau de ploïdie en se basant sur l'utilisation d'un tampon comme l'iodure de propidium (PI) qui est capable de se lier à des paires de bases d'ADN et de produire une fluorescence proportionnelle à la quantité d'ADN présente.

2.2 Préparation du matériel végétal pour l'analyse

Nous avons procédé à analyser 10 échantillons par génotype afin d'avoir une meilleure réponse sur la ploïdie ; pour cela, nous avons suivi le protocole suivant :

- préparation d'un tampon de lyse «chopping buffer » (10 mM MgSO₄, 50 mM KCl, 5 mM HEPES, 1 mM DTT, 0.25% (v/v) Triton X-100, et 0.1% (v/v) 10 mg/ml RNase A) le jour de la manipulation. Le tampon de lyse et le tampon de liaison doivent être conservés dans un bain de glace (Figure 63 A).
- Libération des noyaux d'un fragment de feuille de 50 mg approximativement dans 1 ml du tampon de lyse à l'aide d'un scalpel (Figure 63 B).
- Filtration de la suspension nucléaire obtenue à travers un filtre de 30µm de diamètre (Figure 63 C).
- L'ajout de 1 ml de tampon de liaison à la suspension nucléaire obtenu (Figure 63 D).
- Les échantillons obtenus sont conservés à la température ambiante et à l'obscurité au minimum 10 min avant d'être analysés à l'aide d'un cytomètre en flux (BD Accuri™ C6) pendant environ 50 secondes en fonction des pics (Figures 64 E, F).
- Les pics obtenus ont été comparés à la référence qui est une variété diploïde de dactyle «Conrad» afin d'estimer le niveau de ploïdie de chaque génotype

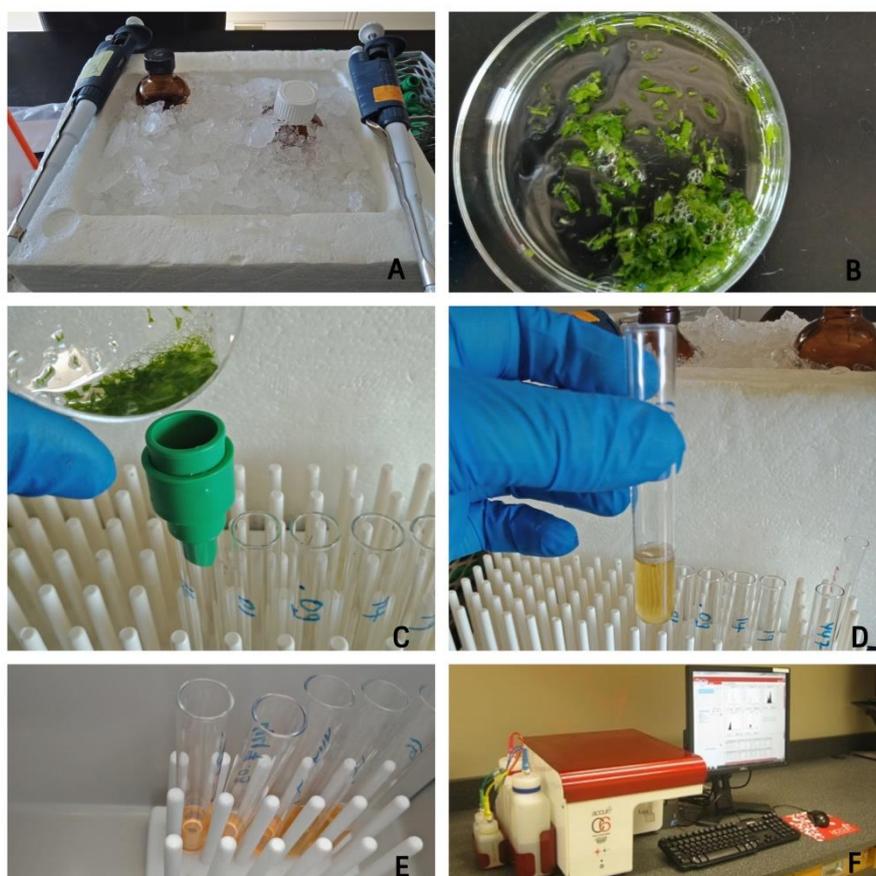


Figure 63 : Préparation des échantillons pour l'analyse de la cytométrie en flux.

3 Séquençage et géotypage

3.1 Isolation d'ADN et quantification

L'ADN génomique a été extrait à partir d'environ 25 à 30 mg de tissus secs obtenus après lyophilisation pendant 3 jours en suivant le protocole de Qiagen DNeasy (Annexe 55). La quantification d'ADN a été réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre nanodrope (spectrophotomètre Nano Drop™ 1000).

Après dilution de l'ADN à 100ng / µl basée sur les résultats obtenus par spectrophotométrie, l'ADN a été quantifié à nouveau par fluorométrie picogreen (Promega, GloMax®-Multi Detection System) avant l'analyse GBS et la concentration finale retenue a été fixée à 20ng / µl par dilution de tous les échantillons à l'aide du système de pipetage automatisé (epMotion® P5073) (Annexe 56).

3.2 Analyse de diversité génétique par la méthode GBS

La préparation de la librairie de GBS (*Génotypage By Sequencing*) a été faite en suivant le protocole de (Poland and Brown, 2011) qui se réalise en 5 étapes citées ci-dessous :

➤ La digestion enzymatique

La digestion enzymatique a été faite en combinant deux enzymes de restriction, *PstI* (CTGCAG) et *MspI* (CCGG).

Le principe consiste à mélanger soigneusement 10µl de l'DNA génomique (20ng/µl) avec 10 µl de mélange de restriction qui contient (2µl de tampon NEB 4, 10X, 0.4µL de HF-PstI (8 U), 0.4 µL de MspI (8 U) et 7.2µl d'H₂O). Le tout est porté au thermocycleur avec le programme suivant : 37 C° pendant 2 h, puis 65 C° pendant 20 min pour inactiver les enzymes, et en fin à 4 ° C à l'infini.

➤ La ligation des adaptateurs

Une ligation d'adaptateurs spécifiques a été utilisée pour tous les échantillons, il s'agit d'adaptateur à code barre et adaptateur commun. Dans cette étude pour chaque boîte / plaque, deux adaptateurs ont été utilisés.

La réaction de ligation a été achevée dans la même plaque que la digestion où sont ajoutés, sur les 20µl du produit de digestion (20ng/µl), 5µl des adaptateurs (0.02 µM adapter 1= 0.1 pmol, 3µm adapter 2=15 pmol) et 15µl du tampon de ligation (qui contient : 2µl du tampon NEB 4 ; 4µl d'ATP (1 mM), 0.5µl d'DNA ligase T4 (200 U) et 8.5µl of H₂O). Le tout est mis en thermocycleur sous-programme suivant : 22 C ° pendant 2 h, 65 C ° pendant 20 min et tenue à 4 C °.

➤ **Mélange des produits ligaturés**

Les échantillons ligaturés ont été regroupés dans un seul tube ensuite 2 purifications ont été faites par l'utilisation du kit de purification QIA Quick PCR en suivant les instructions du fabricant.

➤ **Amplification des produits ligaturés**

Pour chaque librairie, 16 amplifications par PCR ont été réalisées. Pour chaque 10 µl d'ADN sont ajoutés : 5 µl de master mix NEB 5X ; 2 µl d'amorces illumina (10 µM) et 8 µl de H₂O, en suivant le programme suivant : dénaturation à 95 ° C (30 sec), hybridation à 95 ° C (30sec), 62 ° C (20sec), 68 ° C (30sec) répétée en 16 cycles et extension à 72 ° C (5min) et enfin conservation à 4 ° C. À la fin, les produits d'amplification ont été purifiés 2 fois avec le kit de purification et ont été vérifiés sur un gel d'agarose 1%.

➤ **Séquençage de la librairie**

La librairie GBS a été séquencée en utilisant le système Illumina NextSeq dans le centre de biosystème intégré de « Utah State University ».

3.3 Analyse des données

3.3.1 Analyse bioinformatique

À cause de la non disponibilité d'un génome de référence pour le dactyle et la fétuque élevée, la découverte des SNP a été réalisée à l'aide du logiciel d'UNEAK (Universal Network Enabled Analysis Kit) (Fei Lu *et al.*, 2013).

En premier, un contrôle de la qualité de lecture des séquences avait lieu ensuite, les lectures de séquences ont été réduites à 64 pb et des paramètres ont été appliqués afin de faire appel aux SNP :

- pour appeler un SNP homozygote un minimum de 9 lectures pour un allèle et 0 lecture pour l'autre allèle
- pour appeler un SNP hétérozygote, un minimum de 2 lectures pour chaque allèle (4 lectures au total)
- pour le dactyle autotétraploïde, un SNP est considéré comme hétérozygote plutôt qu'une erreur si le nombre d'allèles mineurs est supérieur à 6,7% dans un échantillon.

Si aucune de ces conditions n'a été rencontrée, le résultat de ce génotype est considéré comme donnée manquante. Enfin, seuls les marqueurs avec les fréquences alléliques mineures (MAF) dans la population supérieures à 5% et un seuil de données manquantes inférieur à 30% ont été conservés.

3.3.2 Analyse de la diversité génétique

Avant de lancer l'analyse par le logiciel R (V. 3.6.1), le fichier « hap map » obtenu par le logiciel UNEAK a été converti en un fichier texte qui sera utilisable par les packages suivants : poppr (Kamvar *et al.*, 2014), adegenet (Jombart and Ahmed, 2011) et ade4 (Bougéard and Dray, 2018).

La matrice de distance génétique a été obtenue à l'aide de la fonction *bitwise.dist* dans le package poppr alors que les dendrogrammes ont été réalisés en utilisant la fonction *about* basée sur *unweighted pair group method using arithmetic average* (UPGMA) toujours dans le package poppr. L'analyse en Composante principale (PCA) a été faite par le package ade4 en utilisant la fonction *dudi-pca*.

L'analyse de la variance moléculaire (AMOVA) a été effectuée pour analyser la variation génétique entre et au sein des individus afin d'évaluer la signification statistique à l'aide du logiciel Genalex v.6.51 (Peakall and Smouse, 2012), alors que le flux génétique (N_m) entre les populations a été mené comme suit : $N_m = [(1 - \phi_{st}) / 4 \phi_{st}]$.

L'isolation par distance (IBD) a été réalisée par un test de corrélation entre l'indice de fixation ϕ_{st} et la distance géographique en utilisant le logiciel IBD v. 1.52 (Bohonak, 2002).

Résultats et discussions

1 Détermination du niveau de ploïdie

La cytométrie en flux a été utilisée pour estimer le niveau de ploïdie des deux espèces ; le dactyle et la fétuque élevée.

Les résultats mentionnés dans la figure 64 montrent uniquement deux exemples représentatifs pour chaque niveau de ploïdie.

Le pic principal pour le cultivar de référence «Conrad» qui est diploïde est apparu à environ 300000 (Figure 64A), tandis que les populations et les cultivars de dactyles ont montré un pic principal d'environ 1,5 fois plus grand (Figures 64B et C), il en a de même pour tous les individus du dactyle qui avaient des pics de la même taille, ne montrant donc aucun signe de ploïdie mixte.

Pour la fétuque élevée, tous les génotypes sauf un avaient montré leur pic principal 3 fois plus grand que la référence « Conrad ». Ces pics expliquent l'hexaploïdie des populations et des cultivars (Figures 64D et E).

Cependant, le cultivar Lutine a montré un pic principal 6 fois plus grand que la référence « Conrad » ce qui a mis en évidence le double niveau de ploïdie de ce cultivar (Figure F).

Le coefficient de variation standard (CV) de chaque mesure était inférieur à 7% pour toutes les exécutions (Annexe 57).

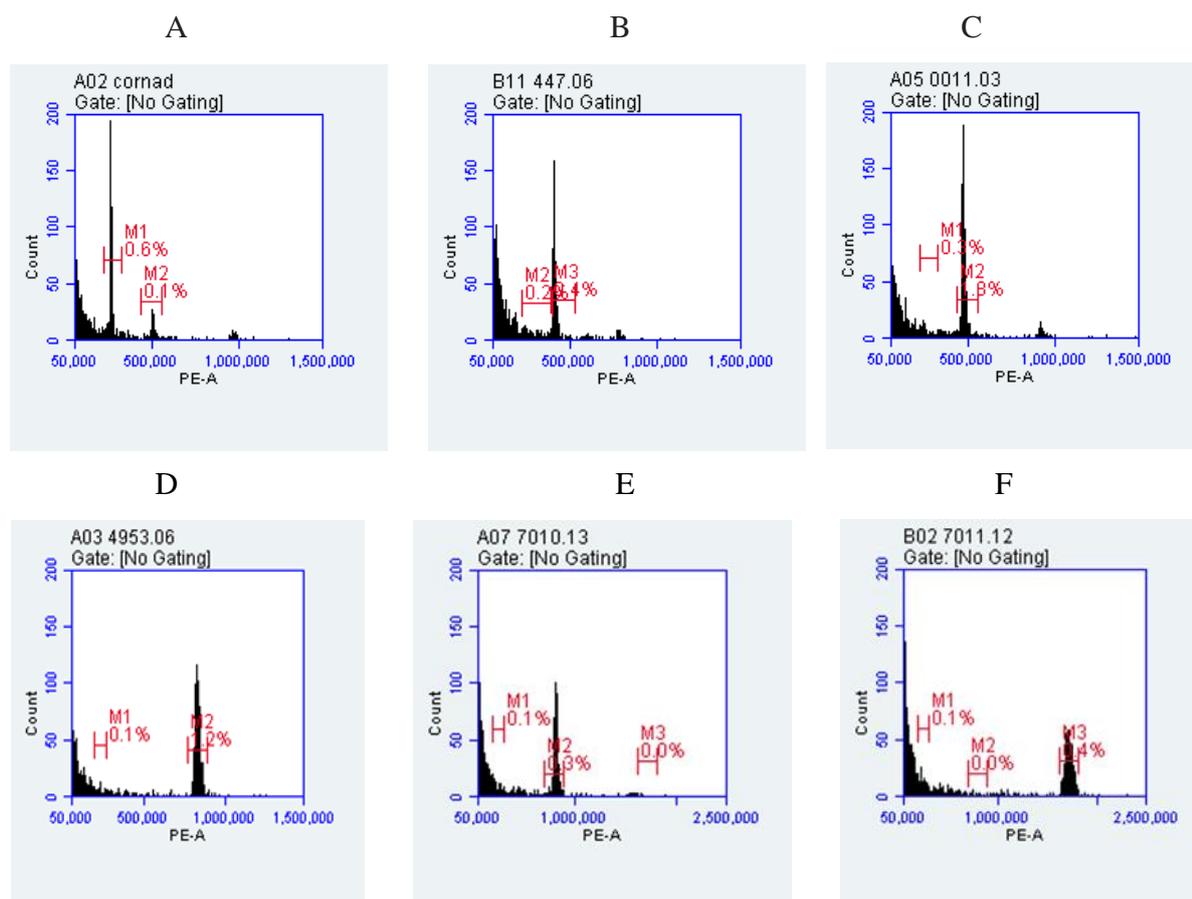


Figure 64 Exemples d'histogrammes de cytométrie en flux de l'intensité de fluorescence relative de l'iodure de Propidium (PI) obtenus à partir du cultivar Conrad (A), la population « Edk » (B) et le cultivar Ludac (C) pour le dactyle ainsi que des exemples de la de fétuque élevée concernant la population FE5718 (D), le cultivar Centurion (E) et le cultivar Lutine (F).

En Afrique du Nord, la fétuque élevée s'est diversifiée en écotypes allant jusqu'au niveau décaploïde (Ghesquière and Jadas-Hecart, 2015). Dans la présente étude, l'analyse de cytométrie en flux a révélé l'hexaploïdie ($2n = 6x$) de toutes les populations de fétuque et du cultivar Centurion qui est déjà confirmé par Lelièvre *et al.*, (2008) ; par contre, le cultivar Lutine s'est avéré comme un cultivar amphiploïdes, ce qui a été précédemment cité par Lelièvre and Volaire (2009). Ce cultivar est connu comme un cultivar non dormant, avec un comportement proche des types tempérés car c'est un hybride entre un matériel tempéré et méditerranéen, ce qui lui confère des caractéristiques à la fois méditerranéennes et continentales.

Quant au genre *Dactylis* qui comprend plusieurs sous-espèces peuvent être diploïdes, tétraploïdes ou hexaploïdes, mais celles de l'Afrique du Nord sont de deux types, Diploïdes et tétraploïdes (Abdelguerfi, 2004).

En ce qui concerne nos résultats, nous avons constaté que Conrad qui est diploïde porte un ensemble de chromosomes de taille assez grande qu'une différence parfaite de 2 fois n'a pas été détectée (M. Tuna, communication personnelle de Mr shaun). Nos populations de dactyle étaient près de 2 fois plus grandes que le cultivar de référence, de tels résultats confirme Mousset (2000), qui a cité que *Dactylis glomerata* L. subsp. *Hispanica* (Roth) Nyman a une grande variabilité phénotypique, et se sont avérés comme des tétraploïdes ($2n = 4 \times = 28$).

2 Analyse de génotypage par séquençage

Le séquençage de la librairie GBS a produit environ 450 millions de lectures brutes avec des longueurs de séquences de 92 pb et une teneur en GC de 54%.

En utilisant le logiciel UNEAK, un nombre total de 17 803 813 de « tags » uniques a été trouvé pour le dactyle et 20 267 834 pour la fétuque élevée. Après alignement par paire, 3961 de paires de tags ont été obtenues pour le dactyle et 4757 pour la fétuque élevée. La filtration pour les valeurs manquantes (<30%) et pour la fréquence allélique mineure (MAF) (> 5%), a produit 787 de SNPs utilisables pour le dactyle et 743 pour la fétuque élevée.

En termes de couverture du génome et de la précision du génotypage des SNP, le choix des enzymes de restriction est important, pour cela un protocole efficace de GBS a été développé par l'utilisation d'enzymes de restriction sensibles à la méthylation telle que *ApeKI* (Elshire *et al.*, 2011). Cependant, certaines enzymes telle que *PstI* entraîne une couverture au moins 8 fois plus élevée qu'*ApeKI* et offre un meilleur équilibre entre la couverture et le nombre total de SNP découverts (Fei Lu *et al.*, 2013). Dans la présente étude, une combinaison de deux enzymes a été appliquée : *PstI* (CTGCAG) et *MspI* (CCGG), ce qui semble assez intéressant et a donné des milliers de SNP informatifs. Selon Poland *et al.*, (2012b), l'utilisation du protocole à deux enzymes a un bon mérite technique et a permis de générer des cartes génétiques à haute densité.

3 Analyse de la diversité génétique

L'analyse de la variance moléculaire AMOVA a révélé que la diversité génétique au sein des populations a contribué à 88% et 86% de la diversité génétique globale chez le dactyle et la féтуque élevée respectivement. Les valeurs obtenues de l'indice de fixation (F_{ST}) estimés à partir des données de polymorphisme génétique des marqueurs SNP sont de 0,127 et 0,140 pour le dactyle et la féтуque élevée respectivement. Cependant, la valeur moyenne de F_{is} est de 0,180 pour le dactyle et de 0,025 pour la féтуque élevée (Tableaux 4 et 5).

Tableau 4 : Analyse de la variance moléculaire des génotypes de dactyle basée sur les marqueurs SNP

Sources de variations	DDL	SCM	CM	Variance estimée	% de la variation
Entre Populations/cultivars	5	19929,461	3985,892	107,521	13%
Au sein Populations/cultivars					
Entre individus	81	70832,039	874,470	133,634	16%
Au sein des individus	87	52826,500	607,201	607,201	72%
Total	173	143588,000		848,356	100%
F-Statistiques	valeurs	p-value			
Fst	0,127	0,010			
Fis	0,180	0,010			
Fit	0,284	0,010			
Fst max	0,626				
F'st	0,202				
Nm	1,723				

(Fst : indice de fixation ou de différenciation ; Fis : coefficient de consanguinité ; Fit : déficit global d'hétérozygotie ; Nm : flux génétique).

Tableau 5 : Analyse de la variance moléculaire des géotypes de féтуque élevée basée sur les marqueurs SNP

Sources de variations	DDL	SCM	CM	Variance estimée	% de la variation
Entre Populations/cultivars	4	21099,366	5274,842	161,985	14%
Au sein des populations/cultivars					
Entre individus	62	63223,022	1019,726	25,266	2%
Au sein des individus	67	64936,000	969,194	969,194	84%
Totale	133	149258,388		1156,445	100%
F-statistiques	valeurs	p-value			
Fst	0,140	0,010			
Fis	0,025	0,290			
Fit	0,162	0,010			
Fst max	0,581				
F'st	0,241				
Nm	1,535				

(Fst : indice de fixation ou de différenciation ; Fis : coefficient de consanguinité ; Fit : déficit global d'hétérozygotie ; Nm : flux génétique).

La distribution hiérarchique de la variation génétique entre et au sein des populations a été caractérisée par l'analyse de la variance moléculaire (AMOVA). Les résultats mentionnés dans les tableaux (4 et 5) indiquent que la variabilité génétique pour les deux espèces existait principalement au sein des individus plutôt qu'entre les populations. Ces résultats ont été aussi confirmés dans les figures 65 et 67 qui se sont montrées avec des longueurs de branches plus importantes entre les échantillons qui sont exprimées par un nombre plus élevé de substitutions par site, mettant donc en évidence la plus grande variabilité génétique au sein des individus de la même accession.

Cette répartition de variabilité génétique, principalement au sein des individus, a fait que la différenciation génétique totale (Fst) de l'ordre de 0,127 et 0,140, pour le dactyle et la féтуque élevée respectivement, est considérée comme modérée selon Wright (1978). Par contre, nous avons noté une différenciation génétique importante entre les cultivars et les populations. Par exemple, la valeur de F_{ST} entre le cultivar de dactyle Ludac et la population Anouche était de l'ordre de 0,269, alors que la valeur F_{ST} entre le cultivar de féтуque élevée Centurion et la population FE5718 était de l'ordre de 0,199 (Annexe 58).

Il a été noté aussi que le flux génétique (Nm) est de 1,723 pour le dactyle et 1,535 pour la féтуque élevée, ce qui suggère plus d'opportunités d'échange alléliques et mélange de populations. Selon Govindaraju (1989) un haut degré de flux génétique est très fréquent chez les graminées auto-incompatibles anémophiles conduisant à une faible variation génétique entre les individus et les populations.

4 Classification des accessions

Pour caractériser la relation entre les 88 plantes de dactyle, un dendrogramme a été construit en utilisant la méthode UPGMA.

Le cultivar Ludac et toutes les plantes du cultivar Medly sauf deux ont été regroupées ensemble avec un support bootstrap à 100% indiquant leur caractère distinct en tant que cultivars. Les populations de dactyle « Bfd » et « Anc » ont été regroupées ensemble avec un support bootstrap, tandis que la population « Edk » a été groupée en incluant deux plants du cultivar Medly ; la population « Rdj » par contre a été groupé adjacente à « Edk » ou Medly (Figure 65).

L'analyse de la structure des populations et des cultivars de dactyle était similaire au dendrogramme, qui a révélé deux groupes majeurs. Le premier groupe structuré était représenté par les cultivars Medly, Ludac, et certains individus de la population « Rdj » alors que le deuxième grand groupe composé de deux sous-groupes, présentant un plus grand nombre de populations. Quelques individus du cultivar Medly et de la population « Rdj » ont présenté une large diffusion entre les deux groupes (Figure 65).

Pour l'analyse en composantes principales (ACP), le premier et le deuxième axe ont représenté 21,9% et 5,5% de la variation totale. Comme pour le dendrogramme et l'analyse de la structure, l'ACP a montré des regroupements distincts des populations « Bfd », « Anc » et « Edk », tandis que la population « Rdj » a présenté une large dispersion dans le plan et elle était plus proche du cultivar Medly (Figure 66).

Concernant les 68 plants de féтуque élevée, le regroupement UPGMA a d'abord séparé le cultivar Lutine des autres génotypes, suivi du cultivar Centurion. Les trois populations ont été mélangées dans les nœuds restants, avec des niveaux élevés de diversité.

L'analyse de la structure a révélé deux grands groupes, le premier était représenté par les individus des génotypes Centurion, FE5729, FE5718 et FE5725 alors que le deuxième groupe majeur était constitué du cultivar Lutine, qui était le plus éloigné de tous les génotypes étudiés (Figure 67).

Pour l'analyse de l'ACP, le premier et le deuxième axe ont représenté 17,9% et 11,2% de la variation totale. Contrairement au dactyle, les cinq accessions ont été groupées étroitement et séparément chacun de l'autre (Figure 68).

Selon la matrice des distances génétiques pour le dactyle, la distance la plus élevée a été enregistrée entre Anouche – 07 / Ludac – 02 (0,265), alors que la plus petite a été observée entre certains individus au sein du cultivar Medly: Medly – 10 / Medly – 03 et entre Medly – 09 / Medly – 10 (0,00012); cependant, pour la féтуque élevée, la distance génétique la plus élevée est de 0,212, enregistrée entre les génotypes Lutine 10 et FE5725–13, alors que la plus faible (0,025) a été observée entre Lutine 12 / Lutine 04. Ces résultats prouvent encore que les cultivars sont plus homogènes que les populations.

Le test d'isolation par distance (IBD) quant à lui, a révélé que les relations entre les génotypes étaient indépendantes de leur origine géographique, et cette indépendance a été confirmée par un manque de corrélation significative entre la génétique (basée sur des marqueurs moléculaires) et les distances géographiques pour les deux espèces. Pour le dactyle la corrélation entre la distance génétique et géographique était ($r = 0,062$, $p = 0,6320$). Cependant, pour la féтуque élevée, même si le test statistique n'était pas significatif ($p = 0,1590$) le coefficient de corrélation était élevé ($r = 0,9907$).

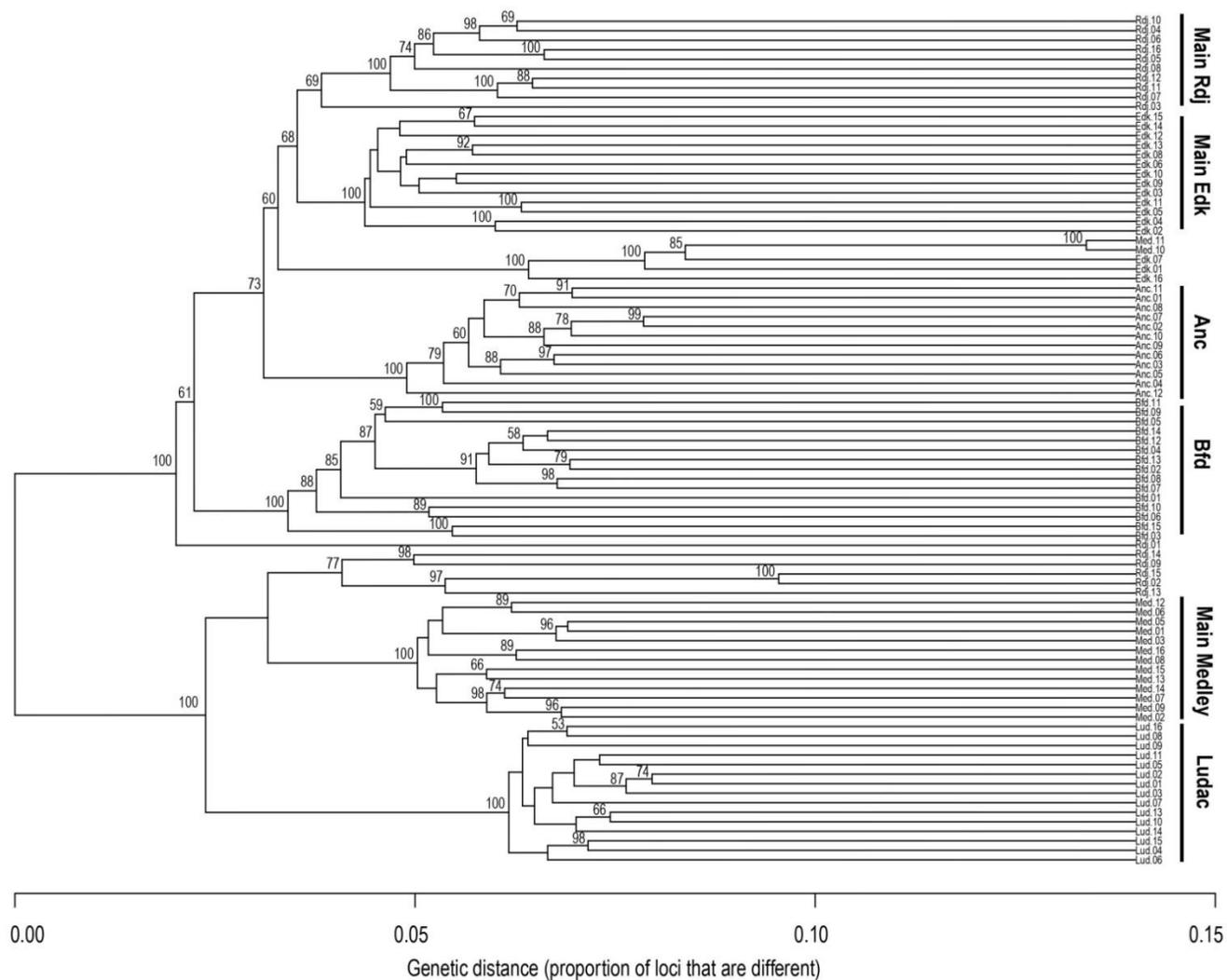


Figure 65 : Dendrogramme des génotypes de dactyle selon la méthode UPGMA

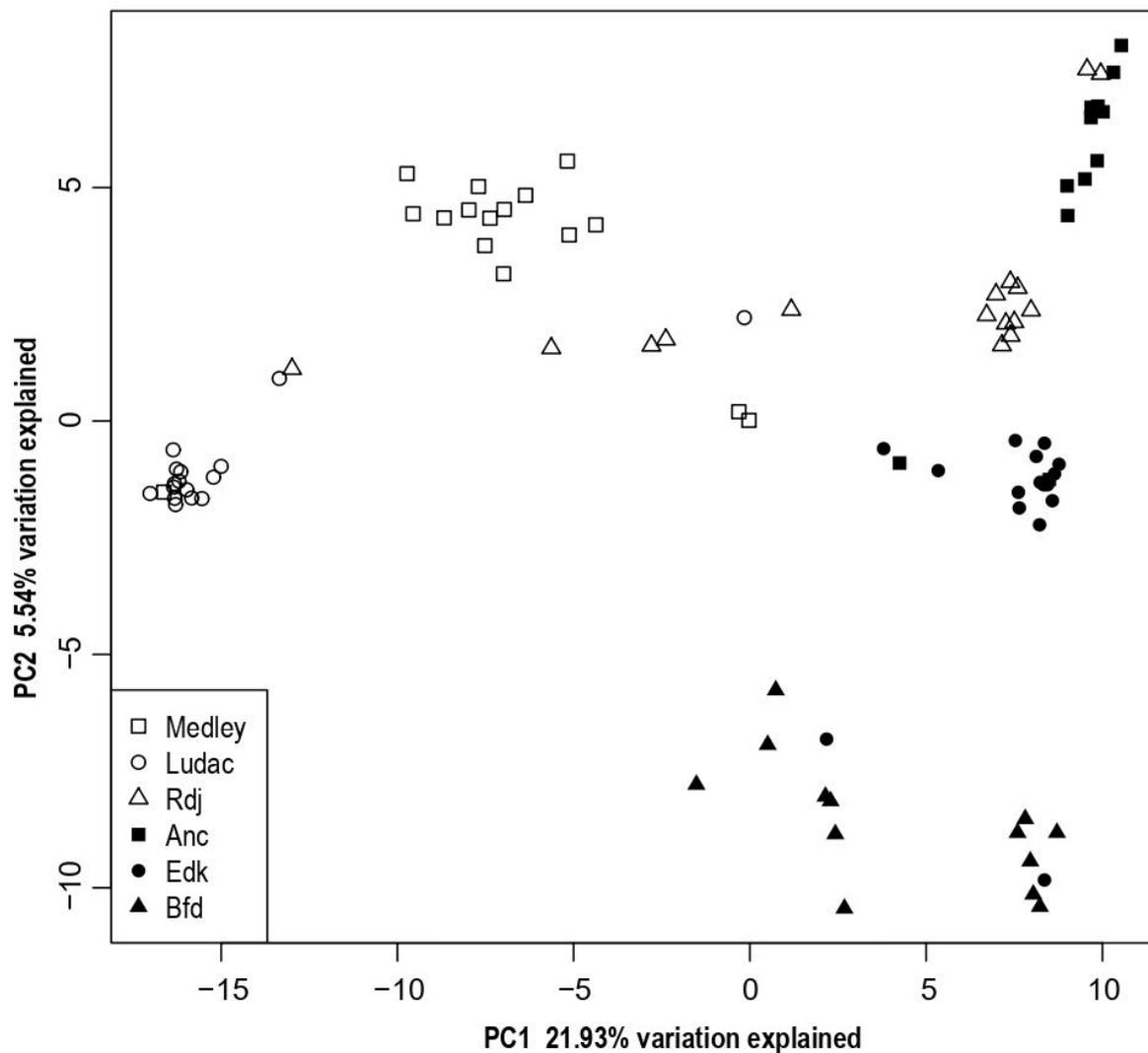


Figure 66 : Analyse en Composantes Principales (ACP) des génotypes de dactyle basée sur les données GBS.

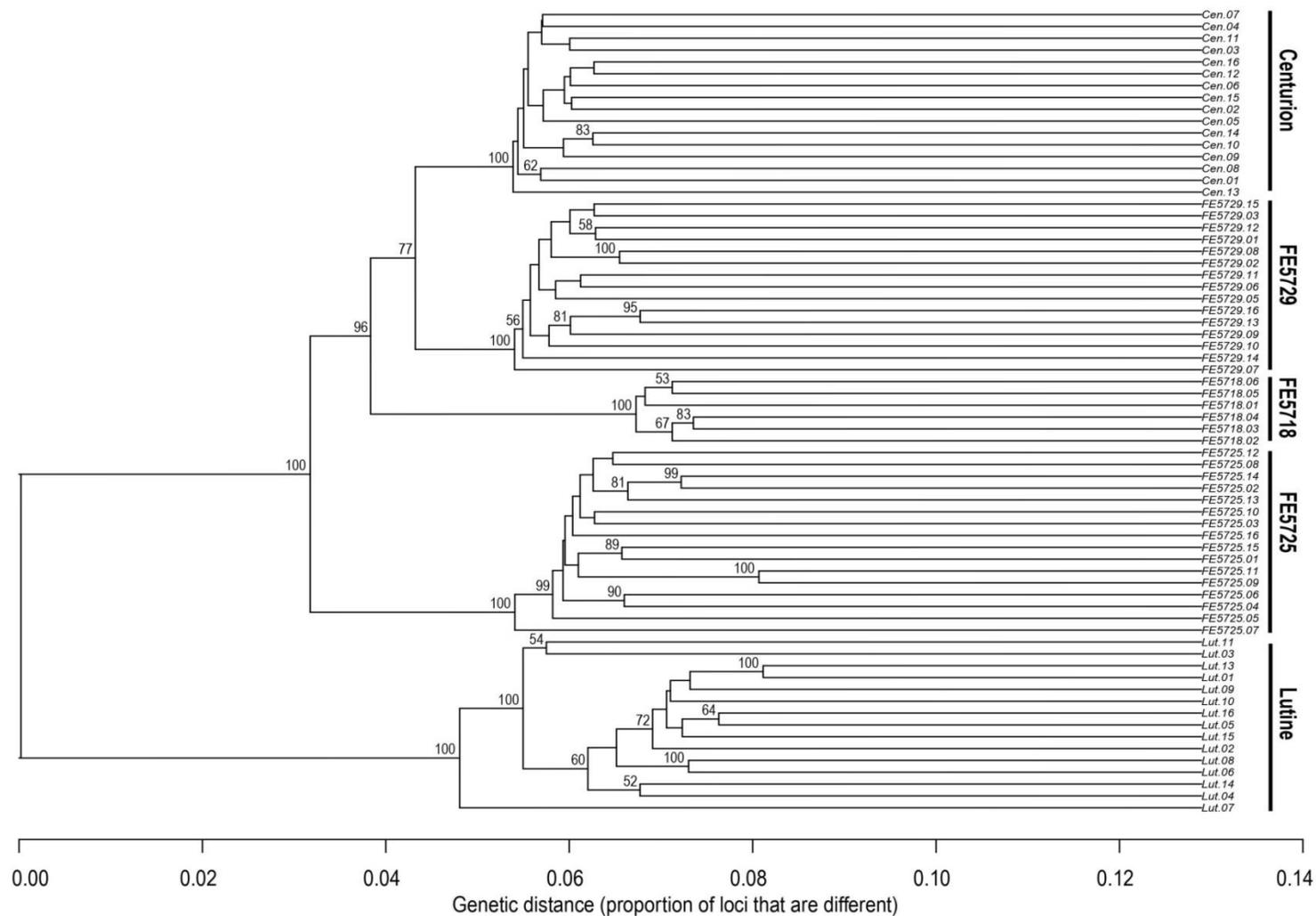


Figure 67 : Dendrogramme des génotypes de fétuque élevée selon la méthode UPGMA

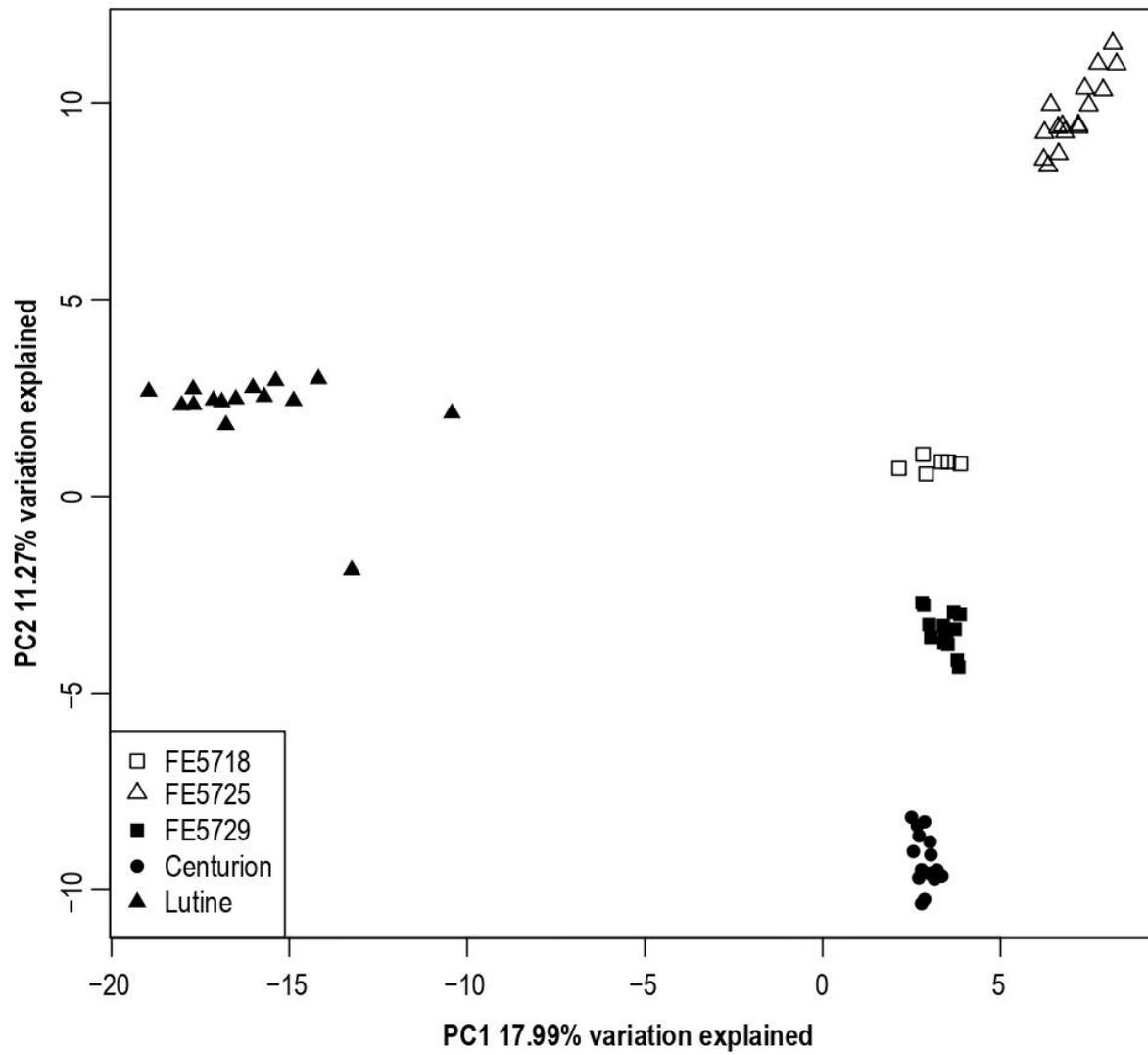


Figure 68 : Analyse en Composantes Principale (ACP) des génotypes de fétuque élevée basée sur les données GBS.

Les dendrogrammes basés sur les distances génétiques de Nei ont classé les génotypes du dactyle et de la féтуque élevée en deux groupes majeurs conformément aux résultats de la structure et de l'ACP. Ces données ont montré une distinction génétique des populations par rapport aux cultivars cela pour les deux espèces, elles étaient regroupées dans des sous-groupes séparés des cultivars (Figures 65 et 67). Ces résultats montrent le caractère unique de ces populations par rapport aux cultivars disponibles et suggèrent que ces populations pouvant être une source unique de variation génétique dans le développement des cultivars.

Un autre résultat intéressant a été trouvé et qui est le rapprochement génétique de certains cultivars avec certaines populations telles que le cas du cultivar Centurion qui était groupé proche de la population FE5729 par rapport aux autres populations (Figure 67). Ce regroupement peut être expliqué par le fait que Centurion provient d'un matériel génétique originaire du sud d'Italie et de la Tunisie (Lelievre and Volaire, 2009) et que la population FE5729 a été collectée de l'est de l'Algérie, plus précisément à Souk Ahras, qui est proche de la Tunisie (209 km). Il en est de même pour le dactyle où les cultivars Ludac et Medly ont été regroupés proches de la population « Rdj » (Figure 65) qui semble avoir une base génétique plus large que les autres populations de dactyle, et cela se confirme par le fait qu'elle présente une plus large diffusion sur l'ACP (Figure 66).

Pour la féтуque élevée, même si le test statistique de Mantel n'était pas significatif, le coefficient de corrélation était élevé. Les populations de cette espèce étaient généralement plus distinctes les unes des autres par rapport aux populations de dactyle, et groupées étroitement et séparément dans l'analyse ACP (Figure 68). Cette distinction a probablement montré une corrélation plus élevée et suggère qu'il pourrait exister une isolation par distance entre ces populations. Cependant, pour confirmer cette tendance à l'isolement par la distance il sera nécessaire en outre d'effectuer plus de collectes afin d'avoir un plus grand nombre d'individus.

Ces informations peuvent aider les sélectionneurs dans leurs décisions s'ils veulent introduire ces populations algériennes uniques dans un programme de sélection, de plus avec les deux cultivars Centurion et Medly qui portent des traits intéressants et une valeur ajoutée pour le pâturage algérien (Mefi *et al.*, 2016), l'infusion de ce matériel génétique pourrait élargir leur potentiel de sélection et avoir une amélioration supplémentaire des cultivars.

Conclusion

Dans la présente étude, nous avons confirmé le niveau de ploïdie et étudié la diversité génétique des populations algériennes de dactyle et de féтуque élevée en utilisant la méthode de génotypage par séquençage.

Des centaines de séquences SNP de haute qualité ont révélé un niveau élevé de diversité génétique au sein des populations, montrant ainsi un caractère unique des populations algériennes qui étaient distinctes par rapport aux cultivars utilisés comme référence dans cette étude, bien que certaines populations de dactyles telle que Ruines de Djemila qui avait montrer un rapprochement génétique avec les deux cultivars de Medly et Ludac, il en ai de même pour la population FE5729 qui s'est montrée proche du cultivar de féтуque élevée Centurion. Ces informations sont essentielles pour les programmes de sélection ainsi que pour la conservation de la diversité intra spécifique.

Les résultats obtenus dans cette étude fournissent une connaissance utile pour la relation et la sélection des écotypes locaux de graminées pérennes pour une production fourragère bien adaptée aux conditions édapho-climatiques de l'Algérie.

Conclusion générale

Au terme de ce travail, des populations algériennes de dactyle (*Dactylis glomerata* L.) et de fétuque élevée (*Festuca arundinacea* Schreb.) ainsi que des cultivars d'origines différents ayant fait l'objet d'une évaluation agronomique et d'une étude de tolérance à la sécheresse pour deux campagnes agricoles ainsi que d'une caractérisation moléculaire ont montré une assez grande variabilité pour l'ensemble des paramètres testés.

Chez les graminées fourragères, la production agronomique est directement liée à la vitesse de croissance des organes aériens, dans le présent travail les résultats de la production de matière sèche indiquent que les populations de dactyle se sont montrées supérieures et régulières que ce soit par saison ou par cycle (à l'exception d'El adaiék), notamment la population Anouche qui est la plus performante, tandis que le cultivars Medly ainsi que la population de fétuque élevée FE5725 se sont montrées les moins productives durant toute l'expérimentation. Il est à noter aussi que la saison fin-printanière est la plus productive comparativement à l'hiver et au début du printemps et que les populations de dactyles sont toujours les plus productives en cette saison.

Concernant la hauteur végétative à la coupe nous avons constaté que les génotypes de fétuque élevée tel que le cultivar Centurion exprime une meilleure réponse aux conditions du milieu avec une hauteur moyenne plus élevée de 81 cm comparativement aux génotypes de dactyle qui sont plus courts tel que le cultivars Medly qui a présenté une hauteur moyenne de 9,33 cm.

A propos de la précocité à l'épiaison, nous avons noté que les génotypes de dactyle sont plus marqués par une précocité à l'épiaison (140 jours) que ceux de de fétuque élevée (151 jours) ; en effet, l'année d'installation était caractérisée par une épiaison tardive (147 jours) par rapport à la deuxième année qui est plus précoce (139 jours).

La persistance de la prairie qui est exprimée par le pourcentage du couvert végétal installé est une préoccupation majeure pour les sélectionneurs des graminées pérennes qui visent à choisir un matériel avec une bonne reprise de végétation après les dormances estivales. Dans le présent travail, nous avons eu une disparition totale de certains génotypes en deuxième année d'expérimentation, tandis que la population de dactyle Anouche a présenté le pourcentage de recouvrement le plus élevé (46,73%) et le cultivar Medly est le moins persistant. Les génotypes El adaiiek et Centurion par contre ont eu des comportements différents avec des pourcentages de régression du taux de recouvrement les plus contrastés (3,08% et 47,61% respectivement).

Avec le changement drastique du climat méditerranéen et la diminution des ressources hydriques le choix du matériel végétal doit viser les génotypes qui maximisent l'utilisation de l'eau pour la production de biomasse aérienne. L'analyse pour ce trait a montré dans cette étude que les populations de dactyle présentent l'intérêt de maximiser l'utilisation des ressources en eau en produisant une meilleure biomasse aérienne par rapport aux autres génotypes ; en effet, la population de dactyle Beni embareck est caractérisée par une meilleure efficacité d'utilisation des précipitations durant toutes les saisons avec une valeur moyenne de l'ordre de 18,22 (kg ha⁻¹ mm⁻¹) alors que le cultivar Medly a présenté la plus faible valeur (5,12 kg ha⁻¹ mm⁻¹). Selon Lelièvre et al.,(2011), l'EUE et la résistance à la sécheresse représentent deux formes distinctes d'adaptation chez les graminées pérennes cultivées dans les zones semi-arides.

Dans un tel scénario, les températures planétaire sont prévues d'augmenter au cours des prochaines décennies pour atteindre +4°C à la fin du siècle (Durand et al., 2015). Par ce réchauffement global la pérennité des prairies sera menacée et donc pour faire face à ces risques climatiques, le matériel végétal choisi doit se caractériser par une plus grande résilience et être capable de produire en dépit de ces perturbations.

De ce fait, les génotypes de dactyles et de fétuque élevée étudiés ont réagi par des modifications morpho - physiologiques et biochimiques afin de répondre à la contrainte hydrique qu'ils ont subie durant l'expérimentation. La restriction hydrique a induit une diminution de la surface transpirante pour l'ensemble des génotypes, cette réduction avait

pour but de réduire les pertes d'eau par les plants. Pour certains géotypes par contre, la restriction hydrique n'a pas eu d'effet, il s'agit des populations FE5715 et Bone faid bouteldja. Nous avons aussi constaté une amélioration de la surface foliaire moyenne à la deuxième année (43,6 cm²) par rapport à la première année (17,15 cm²).

La biomasse aérienne sèche a aussi connu une réduction suite au stress hydrique ; en effet, le cultivar Ludac a présenté le taux de régression le plus élevé (57,4%) alors que le cultivar Medly a produit la plus faible biomasse (10,25 g). La population de dactyle Ruines de djemila s'est présentée comme la population la plus tolérante en enregistrant le pourcentage de régression le plus faible pour les deux années d'étude (1,12%). En ce qui concerne la biomasse racinaire, la restriction hydrique n'a pas eu d'effet négatif sur la population Anouche qui a présenté le plus faible taux de régression (41,46%) et le ratio biomasse racinaire/aérienne le plus élevée (1,68).

Les géotypes de féтуque élevée FE5729 et Lutine ont connu une augmentation dans la synthèse de la chlorophylle totale alors que les géotypes FE5716, FE5725, FE5718 et FE5721 ont partagé de fortes valeurs pour la stabilité membranaire.

L'analyse pour la teneur relative en eau et l'accumulation des osmolytes a montré que les populations de dactyle : Ruines de djemila, Anouche, Bone faid bouteldja et El_adaiek ont accumulé de fortes teneurs en proline et en sucre solubles et que la teneur relative en eau est assez élevée dans leur cellules. Ces teneurs élevées ont participé à maintenir une élasticité membranaire et une meilleure turgescence cellulaire des géotypes, ce qui a permis une meilleure capacité de survie des individus sous contrainte hydrique. Cette bonne conduite dans les conditions contraignantes du milieu pourrait être considérée comme un indicateur de tolérance à la sécheresse pour ces populations.

Une autre piste afin d'améliorer la pérennité des prairies consiste à mieux exploiter la diversité génétique disponible. Aujourd'hui l'avancée dans les méthodes de séquençage a augmenté l'efficacité et la robustesse de caractérisation des marqueurs moléculaires même pour les cultures non modèles. De ce fait, les techniques de réduction du génome telles que le

génotypage par séquençage (GBS) génèrent un grand nombre de polymorphismes nucléotidiques SNP (Single Nucleotide polymorphism).

Dans le présent travail le séquençage de la librairie « GBS » a produit 787 de SNPs de haute qualité pour le dactyle et 743 pour la fétuque élevée. L'analyse pour la diversité génétique a révélé que 88% et 86% de la diversité génétique globale chez le dactyle et la fétuque élevée respectivement est au sein des individus plutôt qu'entre les populations, cette répartition de variabilité génétique principalement au sein des individus a fait que la différenciation génétique totale (F_{st}) soit modérée ($F_{st \text{ dactyle}} = 0,127$, $F_{st \text{ fétuque élevée}} = 0,140$) et que le flux génétique est assez élevé ($Nm_{\text{dactyle}} = 1,723$; $Nm_{\text{fétuque élevée}} = 1,535$). Le test d'isolation par distance (IBD) quant à lui, a révélé que les relations entre les génotypes étaient indépendantes de leurs origines géographiques.

La classification des génotypes sur la base des distances génétiques ainsi que l'analyse en composantes principale ont montré une distinction génétique des populations algériennes par rapport aux cultivars et cela pour les deux espèces, ces populations étaient regroupées dans des sous-groupes séparés des cultivars. Par ailleurs, certaines populations ont montré un rapprochement génétique avec les cultivars, il s'agit de la population de fétuque élevée FE5729 qui était groupée proche du cultivar Centurion et la population de dactyle Ruines de djemila qui était classée avec les cultivars Medly et Ludac.

A partir des résultats obtenus dans la présente thèse nous pouvons conclure que la possibilité de la relance et l'amélioration des productions fourragères et pastorales existe réellement en Algérie. Le matériel végétal étudié représente une ressource génétique qui mérite d'être valoriser dans les programmes d'amélioration afin de créer des cultivars de graminées pérennes pour une production fourragère bien adaptée aux conditions édapho-climatiques de l'Algérie.

Enfin, d'autres voies possibles peuvent être envisagées pour l'amélioration de la production fourragère à savoir :

- L'étude de la dormance estivale, de la qualité fourragère et de des mécanismes moléculaires intervenant dans les réponses au stress hydrique pour ces populations.
- Organisation des opérations de collectes d'autres ressources génétiques locales qui sont très peu étudiées et caractérisées actuellement.
- La maîtrise de la production de semences qui est le véhicule du progrès génétique et qui est totalement absente dans le pays

Références bibliographiques

1. Abbas, K. and A. Abdelguerfi. 2005. Perspectives d'avenir de la jachère pâturée dans les zones céréalières semi-arides. 15.
2. Abdelguerfi, A. 2004. Les ressources génétiques d'intérêt fourrager et/ou pastoral : Diversité, collecte et valorisation au niveau méditerranéen. *CIHEAM, Options Méditerranéennes* 29–41.
3. Abdelguerfi, A. and M. Laouar. 1999. Autoécologie et variabilité de quelques légumineuses d'intérêt fourrager et/ou pastoral: possibilités de valorisation en région méditerranéenne. *Pastagens e Forragens* 20:81–112.
4. Abdelguerfi, A. and M. Laouar. 2002. Les ressources génétiques d'intérêt fourrager et/ou pastoral : Diversité, collecte et valorisation au niveau méditerranéen.
5. Abdelguerfi, A., M. Laouar and M. M. 2008. Les productions fourragères et pastorales en Algérie : Situation et Possibilités d' Amélioration. *Revue Semestrielle "Agriculture & développement"* (INVA, Alger) 6:14–25.
6. Adem, R. and A. Ferrah. 2002. *Les productions fourragères en Algérie: Une déficit chronique (Année 2001)*.
7. Aitken, N. and G. Olah. 2016. Genotyping-by-Sequencing; GBS, capture-RAD and epi-GBS. 17.
8. Akrouchi, K. 2018. Contribution à l'étude du comportement et de la tolérance à la sécheresse de quelques génotypes de dactyle (*Dactylis glomerata* L.) et de fétuque (*Festuca arundinacea* Shereb.). Ecole Nationale Supérieure Agronomique, El Harrach, Alger , Algerie.
9. Alipour, H., G. Bai, G. Zhang, M.R. Bihamta, V. Mohammadi and S.A. Peyghambari. 2019. Imputation accuracy of wheat genotyping-by-sequencing (GBS) data using barley and wheat genome references. *PLoS ONE* 14:1–20.
10. Almeselmani, M. and A.A. Saud. 2014. Assessment of physiological traits associated with yield improvement in wheat (*Triticum durum*) under rainfed conditions.
11. Anderson, M.W., P.J. Cunningham, K.F.M. Reed and A. Byron. 1999. Perennial grasses of Mediterranean origin offer advantages for central western Victorian sheep pasture. *Aust. J. Exp. Agric.* 39:275–284.
12. Annicchiarico, P., L. Pecetti, A. Abdelguerfi, A. Bouizgaren, A.M. Carroni, T. Hayek, M.M. Bouzina and M. Mezni. 2011. Adaptation of landrace and variety germplasm and selection strategies for lucerne in the Mediterranean basin. *Field Crops Research* 120:283–291.
13. Araus, J.L., G.A. Slafer, M.P. Reynolds and C. Royo. 2002. Plant breeding and drought in C3 cereals: what should we breed for? *Annals of botany* 89:925–940.

14. Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant physiology* 24:1.
15. Arraouadi, S., M. Badri, A. Zitoun, T. Huguet and M.E. Aouani. 2011. Analysis of NaCl stress response in Tunisian and reference lines of *Medicago truncatula*. *Russian Journal of Plant Physiology* 58:316–323.
16. Aspinall, D. and L.G. Paleg. 1981. *Proline accumulation: Physiological aspects*. In: Pleg LG, Aspinall D, editors. *Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants*. Sydney, Australia: Academic Press.
17. Barkat, A. 2017. Etude de l'effet du stress hydrique sur le comportement des fétuques (*Festuca arundinacea* Schreb.) et des dactyles (*Dactylis glomerata* L.). Ecole Nationale Supérieure Agonomique, El Harrach, Alger, Algérie.
18. Belkherchouche, H., S. Fellah, H. Bouzerzour, A. Benmahammed and N. Chellal. 2009. Vigueur de croissance, translocation et rendement en grains du blé dur (*Triticum durum* Desf) sous conditions semi arides. *Courrier du savoir* 9:17–24.
19. Benadjaoud, A. and F. Aid. 2012. RÉPONSE ADAPTATIVE DES PLANTS DE *Parkinsonia aculeata* L. À UNE CONTRAINTE OSMOTIQUE. *Algerian Journal of Arid Environment "AJAE"* 2:6–6.
20. Benbarek, N. and R.C. Chabaka. 2017. Potentialités fourragères quantitatives et valeur alimentaire du foin de prairie permanente de la région de Dellys: première année d'étude.
21. Benseddik, B. and K. Benabdelli. 2000. Impact du risque climatique sur le rendement du blé dur (*Triticum durum* Desf.) en zone semi-aride: approche éco-physiologique. *Science et changements planétaires/Sécheresse* 11:45–51.
22. Berthouly-Salazar, C., C. Mariac, M. Couderc, J. Pouzadoux, J.-B. Floc'h and Y. Vigouroux. 2016. Genotyping-by-Sequencing SNP Identification for Crops without a Reference Genome: Using Transcriptome Based Mapping as an Alternative Strategy. *Frontiers in Plant Science* 7.
23. Bland, B.F. and J.W. Dent. 1964. Animal preference in relation to the chemical composition and digestibility of varieties of cocksfoot. *Grass and Forage Science* 19:306–315.
24. Blum, A. 2005. Drought resistance, water-use efficiency, and yield potential—are they compatible, dissonant, or mutually exclusive? *Australian Journal of Agricultural Research* 56:1159–1168.
25. Blum and A. Ebercon. 1981. Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat 1. *Crop Science* 21:43–47.
26. Bohonak, A.J. 2002. IBD (Isolation By Distance): A program for analyses of isolation by distance. *Journal of Heredity* 93:153–154.
27. Bonos, S.A., D. Rush, K. Hignight and W.A. Meyer. 2004. Selection for deep root production in tall fescue and perennial ryegrass. *Crop Science* 44:1770–1775.

28. Borrill, M. 1962. Chromosomal status, gene exchange and evolution in *Dactylis*. *Genetica* 32:94–117.
29. Borrill, M., B. Tyler and M. Lloyd-Jones. 1971. Studies in *Festuca*. I. A chromosome atlas of bovine and scariosae. *Cytologia* 36:1–14.
30. Bougeard, S. and S. Dray. 2018. Supervised Multiblock Analysis in R with the ade4 Package. *Journal of Statistical Software* 86:1–17.
31. Bousba, R., D. Abdelhamid, D. Susan and Y. Nadia. 2013. CARACTÉRISATION MOLÉCULAIRE ET ASSOCIATION MARQUEUR SSR PHÉNOTYPE POUR LA TOLÉRANCE AU STRESS HYDRIQUE CHEZ LE BLÉ DUR (*TRITICUM DURUM* DESF). *European Scientific Journal* 9.
32. Bradford, K.J. and T.C. Hsiao. 1982. Physiological responses to moderate water stress. *Physiological plant ecology II*. Springer. pp.263–324.
33. Bray, E.A. 1993. Molecular responses to water deficit. *Plant physiology* 103:1035.
34. Buckner, R.C., J.R. Todd, P.B. Burrus and R.F. Barnes. 1967. Chemical Composition, Palatability, and Digestibility of Ryegrass-Tall Fescue Hybrids, ‘Kenwell’, and ‘Kentucky 31’ Tall Fescue Varieties 1. *Agronomy journal* 59:345–349.
35. Bushman, B.S., M.D. Robbins, S.E. Larson and J.E. Staub. 2016. Genotyping by Sequencing in Autotetraploid Cocksfoot (*Dactylis glomerata*) without a Reference Genome. In: I. Roldán-Ruiz, J. Baert, and D. Reheul (eds.), *Breeding in a World of Scarcity*. Springer International Publishing, Cham. pp.133–137.
36. Buxton, D.R. and J.R. Russell. 1988. Lignin constituents and cell-wall digestibility of grass and legume stems. *Crop science* 28:553–558.
37. Campa, A. and J.J. Ferreira. 2018. Genetic diversity assessed by genotyping by sequencing (GBS) and for phenological traits in blueberry cultivars. *PLoS ONE* 13:1–17.
38. Campa, A., E. Murube and J.J. Ferreira. 2018. Genetic Diversity, Population Structure, and Linkage Disequilibrium in a Spanish Common Bean Diversity Panel Revealed through Genotyping-by-Sequencing. *Genes* 9:518.
39. Campos, P.S., V. nia Quartin, J. chicho Ramalho and M.A. Nunes. 2003. Electrolyte leakage and lipid degradation account for cold sensitivity in leaves of *Coffea* sp. plants. *Journal of plant physiology* 160:283–292.
40. Casler, M.D. and H.F. Kaeppler. 2001. Molecular breeding for herbage quality in forage crops. *Molecular breeding of forage crops*. Springer. pp.175–188.
41. Casler, M.D. and K.P. Vogel. 1999. Accomplishments and Impact from Breeding for Increased Forage Nutritional Value. *Crop Science* 39:cropsci1999.0011183X003900010003x.
42. Chandrasekharan, P. and H. Thomas. 1971. Studies in *Festuca*. 5. Cytogenetic relationships between species of Bovinae and Scariosae. *Z Pflanzenzucht*.

43. Chapman, D.F., M.J. Robson, R.W. Snaydon and J.R. Caradus. 1992. The growth and carbon allocation patterns of white clover (*Trifolium repens* L.) plants of contrasting branching structure. *Annals of botany* 69:523–531.
44. Clayton, W.D. and S.A. Renvoize. 1986. Genera graminum. Grasses of the world. *Genera graminum. Grasses of the World*. 13.
45. Clevenger, J., C. Chavarro, S.A. Pearl, P. Ozias-Akins and S.A. Jackson. 2015. Single Nucleotide Polymorphism Identification in Polyploids: A Review, Example, and Recommendations. *Molecular Plant* 8.
46. Culvenor, R.A. 1994. The persistence of five cultivars of phalaris after cutting during reproductive development in spring. *Australian journal of agricultural research* 45:945–962.
47. Davey, J.W., P.A. Hohenlohe, P.D. Etter, J.Q. Boone, J.M. Catchen and M.L. Blaxter. 2011. Genome-wide genetic marker discovery and genotyping using next-generation sequencing. *Nat Rev Genet* 12:499–510.
48. Davies, I. 1978. Developmental characteristics of grass varieties in relation to their herbage production: 3. Tiller development in *Dactylis glomerata* and *Lolium perenne* in relation to head emergence. *The Journal of Agricultural Science* 91:117–129.
49. De Leonardis, A.M., M. Petrarulo, P. De Vita and A.M. Mastrangelo. 2010. Genetic and Molecular Aspects of Plant Response to Drought in Annual Crop Species Anna M.
50. Demarquilly, C., J. Aubry and J.-M. Boissau. 1969. VALEUR ALIMENTAIRE DU MAÏS FOURRAGE. I.–COMPOSITION CHIMIQUE ET DIGESTIBILITÉ DU MAÏS SUR PIED.
51. Dib, T.A. and P. Monneveux. 1992. Adaptation à la sécheresse et notion d'idéotype chez le blé dur. I. Caractères morphologiques d'enracinement.
52. Ding, R. and A.M. Missaoui. 2017. Candidate gene association with summer dormancy in tall fescue. *Euphytica* 213:58.
53. Domin, K. 1943. *Monografická studie o rodu Dactylis L.: Notulae criticae ad cognitionem et dispositionem stirpium generis Dactylis L.* A. Lapáček.
54. Dubois, M., K.A. Gilles, J.K. Hamilton, P. t Rebers and F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry* 28:350–356.
55. Duchaufour, P. 1997. *Abrégé de pédologie: sol, végétation, environnement*. Masson.
56. Durand, J.L. 2007. Les effets du déficit hydrique sur la plante : aspects physiologiques. *Fourrages* 190:181.
57. Durand, J.-L., J. Enjalbert, L. Hazard, I. Litrico, C. Picon-Cochard, M.-P. Prudhomme and F. Volaire. 2015. Adaptation des prairies semées au changement climatique :

Actes du colloque présentant les méthodes et résultats du projet Climagie (métaprogramme ACCAF).

58. Durand, J.L., C. Picon-Cochard, J. Lorgeou and F. Volaire. 2013. Ecophysiologie de la réponse et de l'adaptation des plantes fourragères et prairiales au changement climatique. *Fourrages* 214:111–118.
59. Duru, M., P. Cruz and J.P. Theau. 2008. Un modèle générique de digestibilité des graminées des prairies semées et permanentes pour raisonner les pratiques agricoles. *Fourrages* 193:79–102.
60. Dwivedi, S., E. Perotti and R. Ortiz. 2008. Towards molecular breeding of reproductive traits in cereal crops. *Plant Biotechnology Journal* 6:529–559.
61. Eckardt, N.A. 2002. *Abscisic acid biosynthesis gene underscores the complexity of sugar, stress, and hormone interactions*. Am Soc Plant Biol.
62. Edwards, M.T., D.A. Sleper and W.Q. Loegering. 1981. Histology of Healthy and Diseased Orchardgrass Leaves Subjected to Digestion in Rumen Fluid 1. *Crop science* 21:341–343.
63. El Fakhri, M., S. Mahboub, M. Benchekroun and N. Nsarellah. 2010. Effet du stress hydrique sur les caractéristiques d'enracinement du blé dur (*Triticum Durum*. Desf). *Nature & Technology* 6.
64. Elshire, R.J., J.C. Glaubitz, Q. Sun, J.A. Poland, K. Kawamoto, E.S. Buckler and S.E. Mitchell. 2011. A Robust, Simple Genotyping-by-Sequencing (GBS) Approach for High Diversity Species. *PLOS ONE* 6:e19379.
65. Emile, J., M. Ghesquière, R. Traineau and C. Mousset. 1995. In-vivo assessment of different breeding strategies for improving quality in tall fescue. *Ann. Zootech.* 44:60–60.
66. Ergon, Å., G. Seddaiu, P. Korhonen, P. Virkajärvi, G. Bellocchi, M. Jørgensen, L. Østrem, D. Reheul and F. Volaire. 2018. How can forage production in Nordic and Mediterranean Europe adapt to the challenges and opportunities arising from climate change? *European Journal of Agronomy* 92:97–106.
67. Falque, M. 2011. Evolution des méthodes de génotypage.
68. FAO. 2011. *Statistics Year Book 2011*.
69. Fei Lu, A.E. Lipka, J. Glaubitz, R. Elshire, J.H. Cherney, M.D. Casler, E.S. Buckler and D.E. Costich. 2013. Switchgrass Genomic Diversity, Ploidy, and Evolution: Novel Insights from a Network-Based SNP Discovery Protocol. *PLoS Genetics* 9:1–14.
70. Ferret, M. 1975. Comportement des espèces et variétés fourragères autres que la luzerne en zone méditerranéenne. *Fourrages* 103–127.
71. Fu, Y.-B., G.W. Peterson and Y. Dong. 2016. Increasing Genome Sampling and Improving SNP Genotyping for Genotyping-by-Sequencing with New Combinations of Restriction Enzymes. *G3* 6:845–856.

72. Galmés, J., H. Medrano and J. Flexas. 2007. Photosynthetic limitations in response to water stress and recovery in Mediterranean plants with different growth forms. *New phytologist* 175:81–93.
73. Garwood, E.A. and J. Sinclair. 1979. Use of water by six grass species. 2. Root distribution and use of soil water. *The Journal of Agricultural Science* 93:25–35.
74. Gaufichon, L., J.-L. Prioul and B. Bachelier. 2010. Quelles sont les perspectives d'amélioration génétique de plantes cultivées tolérantes à la sécheresse. *Rapport FARM*.
75. George, J.R., D.J. Obermann and D.D. Wolf. 1989. Seasonal trends for nonstructural carbohydrates in stem bases of defoliated switchgrass. *Crop science* 29:1282–1287.
76. Geravandi, M., E. Farshadfar and D. Kahrizi. 2011. Evaluation of some physiological traits as indicators of drought tolerance in bread wheat genotypes. *Russian Journal of Plant Physiology* 58:69–75.
77. Ghesquière, M., T. Bourgoïn, T. Bariac Raynaud, F. Volaire and J.-L. Durand. 2015. Comment la phénologie affecte-t-elle l'accès à la ressource en eau chez les graminées pérennes ? *Colloque présentant les méthodes et résultats du projet Climagie (métaprogramme ACCAF)*. INRA, Poitiers, France. pp.223 p.
78. Ghesquière, M. and J. Jadas-Hecart. 1995. *Les fétuques ou le genre Festuca*. INRA Editions.
79. Ghesquière, M. and J. Jadas-Hecart. 2015. les fétuques ou le genre festuca. *Ressources génétiques des plantes fourragères et à gazon*.
80. Giannakopoulos, C., P. Le Sager, M. Bindi, M. Moriondo, E. Kostopoulou and C.M. Goodess. 2009. Climatic changes and associated impacts in the Mediterranean resulting from a 2 C global warming. *Global and Planetary Change* 68:209–224.
81. Gillet, M. 1980. Les graminées fourragères. *Collection: Nature et Agriculture*.(Gauthier-Villars: Paris).
82. Gilliland, T.J., P.D. Barrett, R.L. Mann, R.E. Agnew and A.M. Fearon. 2002. Canopy morphology and nutritional quality traits as potential grazing value indicators for *Lolium perenne* varieties. *The Journal of Agricultural Science* 139:257.
83. Giorgi, F. and P. Lionello. 2008. Climate change projections for the Mediterranean region. *Global and planetary change* 63:90–104.
84. Glaubitz, J., T. Casstevens, F. Lu, J. Harriman, R. Elshire, Q. Sun and E. Buckler. 2014. TASSEL-GBS: A high capacity genotyping by sequencing analysis pipeline. *PLoS one* 9:e90346.
85. Gnis. 2014. Deux espèces à redécouvrir : le dactyle et la fétuque élevée.
86. Govindaraju, D.R. 1989. Variation in gene flow levels among predominantly self-pollinated plants. *Journal of Evolutionary Biology* 2:173–181.

87. Granier, C., D. Inzé and F. Tardieu. 2000. Spatial Distribution of Cell Division Rate Can Be Deduced from that of p34^{cdc2} Kinase Activity in Maize Leaves Grown at Contrasting Temperatures and Soil Water Conditions. *Plant Physiol.* 124:1393–1402.
88. Grzesiak, S., T. Hura, M.T. Grzesiak and S. Pieńkowski. 1999. The impact of limited soil moisture and waterlogging stress conditions on morphological and anatomical root traits in maize (*Zea mays* L.) hybrids of different drought tolerance. *Acta physiologiae plantarum* 21:305–315.
89. Guo, G., S.H.Q. Liu, S. An, X. Ren and R.N. Lin. 2002. Effect of limited water supply on root growth and development of winter wheat and the characters of soil moisture use before planting. *J Appl Meteorol* 13:621–626.
90. Guo, Y.A.N., Y. Ma, Z. Zhan, B. Li, M. Dingkuhn, D. Luquet and P. De Reffye. 2006. Parameter optimization and field validation of the functional–structural model GREENLAB for maize. *Annals of botany* 97:217–230.
91. Gürcan, K., S. Teber, S. Ercisli and K.U. Yilmaz. 2016. Genotyping by Sequencing (GBS) in Apricots and Genetic Diversity Assessment with GBS-Derived Single-Nucleotide Polymorphisms (SNPs). *Biochem Genet* 54:854–885.
92. Hackel, E. 1882. *Monographia festicarum europaeorum*. Micro Methods.
93. Hand, M.L., N.O.I. Cogan and J.W. Forster. 2012a. Molecular characterisation and interpretation of genetic diversity within globally distributed germplasm collections of tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.) and meadow fescue (*F. pratensis* Huds.). *Theor Appl Genet* 124:1127–1137.
94. Hand, M.L., N.O.I. Cogan and J.W. Forster. 2012b. Genome-wide SNP identification in multiple morphotypes of allohexaploid tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb). *BMC Genomics* 13:219–235.
95. Hartley, W. 1954. The agrostrological index: A phytogeographical approach to the problems of pasture plant introduction. *Australian Journal of Botany* 2:1–21.
96. Hatfield, J.L. and C. Dold. 2019. Water-Use Efficiency: Advances and Challenges in a Changing Climate. *Front Plant Sci* 10.
97. Hayes, R.C., B.S. Dear, G.D. Li, J.M. Virgona, M.K. Conyers, B.F. Hackney and J. Tidd. 2010. Perennial pastures for recharge control in temperate drought-prone environments. Part 1: productivity, persistence and herbage quality of key species. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 53:283–302.
98. Hazard, L., D.J. Barker and H.S. Easton. 2001. Morphogenetic adaptation to defoliation and soil fertility in perennial ryegrass (*Lolium perenne*). *New Zealand Journal of Agricultural Research* 44:1–12.
99. He, J., X. Zhao, A. Laroche, Z.-X. Lu, H. Liu and Z. Li. 2014. Genotyping-by-sequencing(GBS),an ultimate marker-assisted selection(MAS)tool to accelerate plant breeding. *frontiers in plant science* Volume5.

100. Hikosaka, K., K. Ishikawa, A. Borjigidai, O. Muller and Y. Onoda. 2006. Temperature acclimation of photosynthesis: mechanisms involved in the changes in temperature dependence of photosynthetic rate. *Journal of experimental botany* 57:291–302.
101. Houmani, M. 1999. Situation alimentaire du bétail en Algérie. *RRA* 3:35–45.
102. Huang, Y.-F., J.A. Poland, C.P. Wight, E.W. Jackson and N.A. Tinker. 2014. Using Genotyping-By-Sequencing (GBS) for Genomic Discovery in Cultivated Oat. *PLoS ONE* 9:1–16.
103. Hueber, Y., D. Alexis, S. Gautier, S. François, R. Vincent and J.-F. Dufayard. 2015. Introduction au GBS. Available at <https://docplayer.fr/17289104-Introduction-au-gbs-hueber-yann-alexis-dereeper-gautier-sarah-francois-sabot-vincent-ranwez-jean-francois-dufayard-9-13-fevrier-2015.html>.
104. Humphreys, M.W., H.M. Thomas, W.G. Morgan, M.R. Meredith, J.A. Harper, H. Thomas, Z. Zwierzykowski and M. Ghesquiére. 1995. Discriminating the ancestral progenitors of hexaploid *Festuca arundinacea* using genomic in situ hybridization. *Heredity* 75:171–174.
105. INRA. 2006. Deuxième rapport national sur l'état des ressources phylogénétiques.
106. Isawa, K. (National G.R.I. 1983. Deterioration in the chemical composition and nutritive value of forage crops by foliar diseases, 5: Chemical composition and nutritive value of orchardgrass infected with scald and leaf streak [caused by *Rhynchosporium arthosporum* and *Scolecotrichum graminis*]. *Bulletin of the National Grassland Research Institute (Japan)*.
107. Issolah, R. 2008. Les fourrages en Algérie: Situation et perspectives de développement et d'amélioration. *Recherche agronomique* 22:34–47.
108. Jadas-Hecart, J. 1993. Diversité et conservation des ressources génétiques dans l'espèce *Festuca arundinacea* Schreb. *Sauve qui peut* 33–37.
109. Jafari, A. and H. Naseri. 2007. Genetic variation and correlation among yield and quality traits in cocksfoot (*Dactylis glomerata* L.). *J. Agric. Sci.* 145:599–610.
110. Jaritz, G. 1994. Dix années d'expérimentation sur la production fourragère au niveau de l'exploitation à l'ureo Had Soualem. *AL AWAMIA (MA)* 165–228.
111. Jauhar, P.P. 1993. Aneuploids. *Cytogenetics of the Festuca-Lolium Complex*. Springer. pp.113–119.
112. Jombart, T. and I. Ahmed. 2011. adegenet 1.3-1: new tools for the analysis of genome-wide SNP data. *Bioinformatics* 27:3070–3071.
113. Jongrunklang, N., B. Toomsan, N. Vorasoot, S. Jogloy, K.J. Boote, G. Hoogenboom and A. Patanothai. 2011. Rooting traits of peanut genotypes with different yield responses to pre-flowering drought stress. *Field Crops Research* 120:262–270.

114. Kacperska, A. 2004. Sensor types in signal transduction pathways in plant cells responding to abiotic stressors: do they depend on stress intensity? *Physiologia Plantarum* 122:159–168.
115. Kallida, R., L. Zhou, F. Voltaire, A. Guerin, B. Julier, N. Shaimi, M. Fakiri and P. Barre. 2016a. Combining Drought Survival via Summer Dormancy and Annual Biomass Productivity in *Dactylis glomerata* L. *Frontiers in Plant Science* 7.
116. Kallida, R., L. Zhou, F. Voltaire, A. Guerin, B. Julier, N. Shaimi, M. Fakiri and P. Barre. 2016b. Combining Drought Survival via Summer Dormancy and Annual Biomass Productivity in *Dactylis glomerata* L. *Frontiers in Plant Science* 7.
117. Kamvar, Z.N., J.F. Tabima and N.J. Grünwald. 2014. Poppr: an R package for genetic analysis of populations with clonal, partially clonal, and/or sexual reproduction. *PeerJ* 2:e281.
118. Kara, Y. and Chems. Bellkhirib. 2011. ETUDE DES CARACTERES D'ADAPTATION AU DEFICIT HYDRIQUE DE QUELQUES VARIETES DE BLE DUR ET D'ESPECES SAUVAGES APPARENTEES: INTERET POTENTIEL DE CES VARIETES POUR L'AMELIORATION DE LA PRODUCTION.
119. Karcher, D.E., M.D. Richardson, K. Hignight and D. Rush. 2008. Drought tolerance of tall fescue populations selected for high root/shoot ratios and summer survival. *Crop Science* 48:771–777.
120. Kavar, T., M. Maras, M. Kidrič, J. Šuštar-Vozlič and V. Meglič. 2008. Identification of genes involved in the response of leaves of *Phaseolus vulgaris* to drought stress. *Molecular Breeding* 21:159–172.
121. Khedim, A., H.E. Khelifi, S. Djaouchi, S. Chafai, M. Laouar and M.M. Bouzina. 2008. Caractérisation de quelques populations spontanées de deux espèces de graminées fourragères pérennes : *Dactylis glomerata* L. et *Festuca arundinacea* Schreb. *Zaragoza : CIHEAM Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens* pages 449-452.
122. Laib, A. 1988. Evaluation des bilans fourragers à travers les différents plans de développement et leurs impacts sur le cheptel national (bovin, ovin, caprin). PhD Thesis, Thèse d'ingénieur INA d'Alger.
123. Lapeyronie, A. 1982. *Les productions fourragères méditerranéennes*. G.-P. Maisonneuve et Larose.
124. Laude, H.M. 1953. The nature of summer dormancy in perennial grasses. *Botanical Gazette* 114:284–292.
125. Leconte, D., J.C. Simon and D. Stilmant. 2004. Diversité floristique des prairies permanentes normandes. Liens avec les caractéristiques des produits laitiers dérivés. *Fourrages* 178, 265-283.(2004).
126. Lehtonen, I., K. Ruosteenoja and K. Jylhä. 2014. Projected changes in European extreme precipitation indices on the basis of global and regional climate model ensembles. *International Journal of Climatology* 34:1208–1222.

127. Lelièvre, F., S. Satger and F. Volaire. 2008. Water use efficiency in a mild season and water cost of summer survival of perennial forage grasses in Mediterranean areas. 259–263.
128. Lelièvre, F., G. Seddaiu, L. Ledda, C. Porqueddu and F. Volaire. 2011. Water use efficiency and drought survival in Mediterranean perennial forage grasses. *Field Crops Research* 121:333–342.
129. Lelièvre, F. and F. Volaire. 1993. Rythmes saisonniers de croissance de quelques espèces fourragères utilisables en complément des parcours naturels en Corse. *Fourrages* 133:59–81.
130. Lelièvre, F. and F. Volaire. 2009. Current and Potential Development of Perennial Grasses in Rainfed Mediterranean Farming Systems.
131. Levitt, J. 1980. Responses of plants to environmental stresses. *Water, radiation, salt, and other stresses 2*.
132. Li, P., S. Bhattarai, G. Peterson, B. Coulman, M. Schellenberg, B. Biligetu and Y.-B. Fu. 2018. Genetic Diversity of Northern Wheatgrass (*Elymus lanceolatus* ssp. *lanceolatus*) as Revealed by Genotyping-by-Sequencing. *Diversity* 10:23.
133. Lichtenthaler, H.K. and A.R. Wellburn. 1983. *Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents*. Portland Press Ltd.
134. Ludlow, M.M. 1989. Strategies of response to water stress.
135. Lumaret, R., J.-L. Guillerm, J. Delay, A.A.L. Loutfi, J. Izco and M. Jay. 1987. Polyploidy and habitat differentiation in *Dactylis glomerata* L. from Galicia (Spain). *Oecologia* 73:436–446.
136. MADR. 2007. Statistiques agricoles : Serie B.
137. MADR. 2012. Statistiques agricoles : Serie B.
138. MADR. 2015. Statistiques Agricoles : Série B.
139. Maire, R. 1955. *Flore de l'Afrique du Nord 3, 129*. Paris.
140. Man, D., Y.-X. Bao, L.-B. Han and X. Zhang. 2011. Drought tolerance associated with proline and hormone metabolism in two tall fescue cultivars. *HortScience* 46:1027–1032.
141. Mao, J., D. Luo, G.-W. Wang, J. Zhang, Y.-M. Yang, X.-Q. Zhang and B. Zeng. 2016. Genetic diversity of orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) cultivars revealed by simple sequence repeats (SSR) markers. *Biochemical Systematics and Ecology* 66:337–343.
142. Martin, U., S.G. Pallardy and Z.A. Bahari. 1987. Dehydration tolerance of leaf tissues of six woody angiosperm species. *Physiologia Plantarum* 69:182–186.
143. Mastrangelo, A.M., E. Mazzucotelli, D. Guerra, P. De Vita and L. Cattivelli. 2012. Improvement of drought resistance in crops: from conventional breeding to genomic

- selection. *Crop stress and its management: Perspectives and strategies*. Springer. pp.225–259.
144. Mefti, M. 2012. Etude de la réponse des graminées fourragères, fétuque (*Festuca arundinacea* Schreb.) et dactyle (*Dactylis glomerata* L.) au déficit hydrique : structure foliaire, accumulation des osmotocums et efficience d'utilisation de l'eau. Thèse doctorat en science agronomique, El Harrach, Ecole national supérieur d'agronomie, 169p. Ecole Nationale Supérieure Agronomique, El Harrach, Alger , Algérie.
 145. Mefti, M., H. Bouzerzour, A. Abdelguerfi and H. Nouar. 2008. Morphological and Growth Characteristics of Perennial Grass Cultivars Grown under Semi-Arid Conditions of the Algerian High Plateaus. *Journal of Agronomy*.
 146. Mefti, M., H. Bouzerzour, E. Francia, A. Ulrici, A. Abdelguerfi, P. Barre and N. Pecchioni. 2016. Agronomic and molecular evaluation of cocksfoot and tall fescue cultivars for adaptation to an Algerian drought-prone environment. *Euphytica* 212:371–386.
 147. Megherbi, A., Z. Mehdadi, F. Toumi, K. Moueddene and S.E.B. Bouadjra. 2012. Tolérance à la sécheresse du blé dur (*Triticum durum* Desf.) et identification des paramètres morfo-physiologiques d'adaptation dans la région de Sidi Bel-Abbès (Algérie occidentale). *Acta botanica gallica* 159:137–143.
 148. Meisser, M., A. Vitra, L. Stévenin, E. Mosimann, P. Mariotte and A. Buttler. 2018. Impacts de la sécheresse sur le fonctionnement des systèmes herbagers. *Recherche agronomique suisse* 9:82–91.
 149. Merdjane, L. and I. hacene. 2015. Le déficit fourrager en zone semi-aride: une contrainte récurrente au développement durable de l'élevage des ruminants.
 150. Mian, M.A.R., A.A. Hopkins and J.C. Zwonitzer. 2002. Determination of Genetic Diversity in Tall Fescue with AFLP Markers. *Crop Science* 42:944–950.
 151. Mitchell, K.J. and R. Lucanus. 1962. Growth of pasture species under controlled environment: III. Growth at various levels of constant temperature with 8 and 16 hours of uniform light per day. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 5:135–144.
 152. Monneveux, P. and M. Nemmar. 1986. Contribution à l'étude de la résistance à la sécheresse chez le blé tendre (*Triticum aestivum* L.) et chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.): étude de l'accumulation de la proline au cours du cycle de développement.
 153. Morgan, J.M. 1984. Osmoregulation and water stress in higher plants. *Annual review of plant physiology* 35:299–319.
 154. Mousset, C. 1992. *Le dactyle*. INRA.
 155. Mousset, C. 1993. Diversité et conservation des ressources génétiques dans le genre *Dactylis* Linné. *Sauve qui peut* 25–32.
 156. Mousset, C. 1995. *Les dactyles ou le genre Dactylis*. INRA Editions.

157. Mousset, C. 2000. Rassemblement, utilisation et gestion des ressources génétiques de dactyle à l'INRA de Lusignan. *Fourrages* 121–139.
158. Myles, S. 2013. Improving fruit and wine: what does genomics have to offer? *Trends in Genetics* 29:190–196.
159. Nagore, M.L., A. Della Maggiora, F.H. Andrade and L. Echarte. 2017. Water use efficiency for grain yield in an old and two more recent maize hybrids. *Field Crops Research* 214:185–193.
160. Nedjraoui, D. 2003. Profil fourrager. *Université des Sciences et de la Technologie H. Boumediène (USTHB). Alger.*
161. Nefzaoui, A. 1994. Adaptation de l'utilisation et du traitement des pailles aux conditions de l'Afrique du Nord. *Zaragoza : CIHEAM Options Méditerranéennes* 6:61–78.
162. Norris, I.B. and H. Thomas. 1982. Recovery of ryegrass species from drought. *The Journal of Agricultural Science* 98:623–628.
163. Norton, D.P. Malinowski and F. Volaire. 2016. Plant drought survival under climate change and strategies to improve perennial grasses. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 36:29.
164. Norton, M.R., F. Lelièvre, S. Fukai and F. Volaire. 2008. Measurement of summer dormancy in temperate perennial pasture grasses. *Aust. J. Agric. Res.* 59:498.
165. Norton, M.R., F. Volaire and F. Lelièvre. 2006. Summer dormancy in *Festuca arundinacea* Schreb.; the influence of season of sowing and a simulated mid-summer storm on two contrasting cultivars. *Australian Journal of Agricultural Research* 57:1267.
166. Norton, F. Volaire, F. Lelièvre and S. Fukai. 2009. Identification and Measurement of Summer Dormancy in Temperate Perennial Grasses. *Crop Science* 2347–2352.
167. Nouad, M.A. 2001. Alternatives fourragères en zones semi arides. : *Actes de l'Atelier national sur la stratégie de développement des cultures fourragères en Algérie* 8–11.
168. O'Donovan, M. 2001. *The influence of grass cultivars on milk production.* Teagasc.
169. Olson, G.L., T.D. Phillips, G.D. Lacifield, E. Vanzant and S.R. Smith. 2005. Coolseason grass grazing tolerance. *Kentucky Agric. Exp. Stn., Univ. of Kentucky, Lexington University of Kentucky, Extension Service Report* 515:14.
170. ONS. 2019. EVOLUTION DES ECHANGES EXTERIEURS DE MARCHANDISES DE 2013 A 2018. *Office National des Statistiques, la Direction Technique Chargée de la Comptabilité Nationale Collections Statistiques.*
171. Oukara, F.Z., C. Chaouia and F.Z. Benrebiha. 2017. Contribution to the study of the effect of the water stress on morphological and physiological behavior of *Pistacia atlantica* Desf. seedlings. *AgroBiologia* 7:225–232.

172. Pan, X. 2011. Tall fescue performance and protein alteration during drought stress. PhD Thesis, Oklahoma State University.
173. Peakall, R. and P.E. Smouse. 2012. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update. *Bioinformatics* 28:2537–2539.
174. Pecetti, L., P. Annicchiarico, A. Abdelguerfi, R. Kallida, M. Mefti, C. Porqueddu, N.M. Simões, F. Volaire and F. Lelièvre. 2011. Response of Mediterranean Tall Fescue Cultivars to Contrasting Agricultural Environments and Implications for Selection. *Journal of Agronomy and Crop Science* 197:12–20.
175. Peterson, G.W., Yibo Dong, C. Horbach, and Yong-Bi Fu. 2014. Genotyping-By-Sequencing for Plant Genetic Diversity Analysis: A Lab Guide for SNP Genotyping. *Diversity (14242818)* 6:665–680.
176. Pirnajmedin, F., M. Majidi, A. Mirlohi and A. Noroozi. 2016. Application of EST-derived microsatellite markers for analysis of genetic variation in tall fescue and its comparison with morphological markers. *Biochemical Systematics and Ecology* 65:225–233.
177. Pirnajmedin, F., M.M. Majidi and M. Gheysari. 2015. Root and physiological characteristics associated with drought tolerance in Iranian tall fescue. *Euphytica* 202:141–155.
178. Poland, J. and P. Brown. 2011. PstI-MspI GBS Genotyping-by-Sequencing Protocol PstI-MspI. *PLOS ONE* 1–4.
179. Poland, J., J. Rutkoski, J. Endelman, S. Wu, Y. Manes, S. Dreisigacker, J. Crossa, H. Sánchez-Villeda, M. Sorrells and J.-L. Jannink. 2012a. Genomic Selection in Wheat Breeding using Genotyping-by-Sequencing. *The Plant Genome* 5:103–113.
180. Poland, J.A., P.J. Brown, M.E. Sorrells and J.-L. Jannink. 2012b. Development of High-Density Genetic Maps for Barley and Wheat Using a Novel Two-Enzyme Genotyping-by-Sequencing Approach. *PLOS ONE* 7:e32253.
181. Pootakham, W., N. Jomchai, P. Ruang-areerate, J.R. Shearman, C. Sonthirod, D. Sangsrakru, S. Tragoonrung and S. Tangphatsornruang. 2015. Genome-wide SNP discovery and identification of QTL associated with agronomic traits in oil palm using genotyping-by-sequencing (GBS). *Genomics* 105:288–295.
182. Rachmilevitch, S. 2006. Physiological and biochemical indicator for stress tolerance. *Plant-environment interactions* 321–356.
183. Radojevic, I., R.J. Simpson, J.A. Stjohn and M.O. Humphreys. 1994. Chemical composition and in vitro digestibility of lines of *Lolium perenne* selected for high concentrations of water-soluble carbohydrate. *Australian journal of agricultural research* 45:901–912.
184. Ramanjulu, S. and D. Bartels. 2002. Drought-and desiccation-induced modulation of gene expression in plants. *Plant, cell & environment* 25:141–151.

185. Rauf, S., D. Sienkiewicz-Paderewska, D.P. Malinowski, M.M. Hussain, I.A.K. Niazi and M. Kausar. 2016. Forages: Ecology, Breeding Objectives and Procedures. In: J.M. Al-Khayri, S.M. Jain, and D.V. Johnson (eds.), *Advances in Plant Breeding Strategies: Agronomic, Abiotic and Biotic Stress Traits*. Springer International Publishing, Cham. pp.149–201.
186. Rogers, M.E. and W.M. Lush. 1989. Comparisons of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) accessions grown as turfs (lawns). *Australian journal of agricultural research* 40:549–559.
187. Roldán-Ruiz, I., J.D. Riek, H. Muylle, J. Baert, A. Ghesquiere and M. Vandewalle. 2005. Les marqueurs moléculaires : quelles utilisations possibles en cultures fourragères ? 20.
188. Saeidi, M., M. Abdoli, M. Azhand and M. Khas-Amiri. 2013. Evaluation of drought resistance of barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars using agronomic characteristics and drought tolerance indices. *Albanian Journal of Agricultural Sciences* 12:545.
189. Saha, M.C., R. Mian, J.C. Zwonitzer, K. Chekhovskiy and A.A. Hopkins. 2005. An SSR- and AFLP-based genetic linkage map of tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.). *Theor Appl Genet* 110:323–336.
190. Sampoux, J.-P., P. Barre, I. Litrico, S. Fourtier, E. Willner and S. Nehrlich. 2013. La diversité naturelle des graminées fourragères : une ressource génétique à mieux connaître, préserver et valoriser depuis l'échelle locale jusqu'à l'échelle continentale. *Innovations Agronomiques* 29:45–60.
191. Sanada, Y., M.-C. Gras and E. van Santen. 2010. Cocksfoot. In: B. Boller, U.K. Posselt, and F. Veronesi (eds.), *Fodder Crops and Amenity Grasses*. Springer New York, New York, NY. pp.317–328.
192. Seal, A.G. 1983. DNA variation in *Festuca*. *Heredity* 50:225–236.
193. Senoussi, A. and T. Behir. 2010. Etude des Disponibilités des Aliments de Bétails dans les Régions Sahariennes, Cas de la Région du Souf. *RC* 8:65–74.
194. Shaimi, N., R. Kallida, F. Volaire and C.A. Faiz. 2009a. Summer Dormancy in Orchardgrass: Evaluation and Characterization through Ecophysiological and Genetic Studies. *Crop Sci.* 49:2353–2358.
195. Shaimi, N., R. Kallida, F. Volaire and C.A. Faiz. 2009b. Summer Dormancy in Orchardgrass: Evaluation and Characterization through Ecophysiological and Genetic Studies. *Crop Science* 49:2353–2358.
196. Sharifi Tehrani, M., M. Mardi, J. Sahebi, P. Catalán and A. Díaz-Pérez. 2009. Genetic diversity and structure among Iranian tall fescue populations based on genomic-SSR and EST-SSR marker analysis. *Plant Syst Evol* 282:57–70.
197. Si Ziani, Y. and D. Boulberhane. 2001. Bilan fourrager 1998: comparaisons offre/besoins. *Actes du 1er atelier national Sur le développement des fourrages en Algérie ITGC* 20–26.

198. Siadjeu, C., E. Mayland-Quellhorst and D.C. Albach. 2018. Genetic diversity and population structure of trifoliolate yam (*Dioscorea dumetorum* Kunth) in Cameroon revealed by genotyping-by-sequencing (GBS). *BMC Plant Biology* 18:N.PAG-N.PAG.
199. Siddique, K.H.M., K.L. Regan, D. Tennant and B.D. Thomson. 2001. Water use and water use efficiency of cool season grain legumes in low rainfall Mediterranean-type environments. *European Journal of Agronomy* 15:267–280.
200. Simane, B., J.M. Peacock and P.C. Struik. 1993. Differences in developmental plasticity and growth rate among drought-resistant and susceptible cultivars of durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. durum). *Plant and soil* 157:155–166.
201. Sleper, D.A. 1985. Breeding tall fescue. *J Plant Breed Rev* 3:313–342.
202. Sleper, D.A. and R.C. Buckner. 1995. The fescues. *Forages* 1:345–356.
203. Šmarda, P. and D. Stančík. 2006. Ploidy level variability in South American fescues (*Festuca* L., Poaceae): use of flow cytometry in up to 5 1/2-year-old caryopses and herbarium specimens. *Plant Biology* 8:73–80.
204. Smith, K.F., K.F.M. Reed and J.Z. Foot. 1997. An assessment of the relative importance of specific traits for the genetic improvement of nutritive value in dairy pasture. *Grass and Forage Science* 52:167–175.
205. Son, D., E. Compaoré, S. Bonkougou and S. Sangaré. 2011. Effet du stress hydrique sur la croissance et la production du sésame (*Sesamum indicum*). *Journal of Applied Biosciences* 37:2460–2467.
206. Spangenberg, G. 2005. Transgenesis and Genomics in Molecular Breeding of Pasture Grasses and Legumes for Forage Quality and other Traits. In: H.P.S. Makkar and G.J. Viljoen (eds.), *Applications of Gene-Based Technologies for Improving Animal Production and Health in Developing Countries*. Springer Netherlands, Dordrecht. pp.357–372.
207. Stewart, A. and N. Ellison. 2010. The genus *Dactylis*; wealth of wild Species: role in plant genome elucidation and improvement, . *Springer, New York*. Vol.2.
208. Stone, B.A. 1994. Prospects for improving the nutritive value of temperate, perennial pasture grasses. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 37:349–363.
209. Timac agro, R. 2020. La culture du maïs ensilage. 1–2.
210. Troll, W. and J. Lindsley. 1955. A photometric method for the determination of proline. *Journal of biological chemistry* 215:655–660.
211. Trushar, S. and P. Rajneesh. 2016. Genotyping By Sequencing (GBS) in Crop plants.
212. Tubiello, F., J.-F. Soussana and S. Howden. 2008. Crop and pasture response to climate change. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104:19686–90.

213. Tuna, M., D.K. Khadka, M.K. Shrestha, K. Arumuganathan and A. Golan-Goldhirsh. 2004. Characterization of natural orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) populations of the Thrace Region of Turkey based on ploidy and DNA polymorphisms. *Euphytica* 135:39–46.
214. Turner, N.C. 1986. Adaptation to water deficits: a changing perspective. *Functional Plant Biology* 13:175–190.
215. Turner, N.C., G.C. Wright and K.H.M. Siddique. 2001. Adaptation of grain legumes (pulses) to water-limited environments.
216. Tyree, M.T. and P.G. Jarvis. 1982. Water in tissues and cells. *Physiological plant ecology II*. Springer. pp.35–77.
217. Verdaguer, B., M.H. Bonneau, C. Balardelle, M. Romestant and P. Lacaze. 2005. Génie génétique appliqué à l'amélioration des espèces fourragères: Génétique et prairie (2e partie). *Fourrages (Versailles)* 347–364.
218. Villax, E. 1963. La culture des plantes fourragères dans la région méditerranéenne occidentale, Edmond Joseph Villax. *Les cahiers de la recherche agronomique* 17.
219. Volaire, F. 2002. Drought survival, summer dormancy and dehydrin accumulation in contrasting cultivars of *Dactylis glomerata*. *Physiologia Plantarum* 116:42–51.
220. Volaire, F., K. Barkaoui and M. Norton. 2014. Designing resilient and sustainable grasslands for a drier future: Adaptive strategies, functional traits and biotic interactions. *European Journal of Agronomy* 52:81–89.
221. Volaire, F., P. Barre, V. Beguier, T. Bourgoïn, J.-L. Durand, M. Ghesquière, J.P. Jaubertie, I. Litrico and D. Noel. 2013. Quels idéotypes de plantes fourragères pour des prairies adaptées au changement climatique?
222. Volaire, F. and F. Lelièvre. 2004. How can resistant genotypes of *Dactylis glomerata* L. survive severe Mediterranean summer drought? *Cahiers Options Méditerranéennes* 62:145–148.
223. Volaire, F. and M. Norton. 2006. Summer Dormancy in Perennial Temperate Grasses. *Annals of Botany* 98:927–933.
224. Volaire, F., M.R. Norton and F. Lelièvre. 2009. Summer drought survival strategies and sustainability of perennial temperate forage grasses in Mediterranean areas. *Crop Science* 49:2386–2392.
225. Volaire, F., M.R. Norton, G.M. Norton and F. Lelièvre. 2005. Seasonal patterns of growth, dehydrins and water-soluble carbohydrates in genotypes of *Dactylis glomerata* varying in summer dormancy. *Annals of botany* 95:981–990.
226. Volaire, F., H. Thomas and F. Lelièvre. 1998. Survival and recovery of perennial forage grasses under prolonged Mediterranean drought: I. Growth, death, water relations and solute content in herbage and stubble. *New phytologist* 140:439–449.

227. Volaire, M. Godron and F. Lelievre. 1990. Les formations herbacées de Corse. I-Élaboration d'une typologie mésologique et floristique.
228. Watson, L., H.T. Clifford and M.J. Dallwitz. 1985. The Classification of Poaceae: Subfamilies and Supertribes. *Aust. J. Bot.* 33:433–484.
229. Watson, L., M.J. Dallwitz and C.R. Johnston. 1986. Grass genera of the world: 728 detailed descriptions from an automated database. *Australian Journal of Botany* 34:223–230.
230. Wilson, J.R. 1978. *Plant relations in pastures*. Csiro.
231. Wright, S. 1978. *Evolution and the Genetics of Populations, Variability Within and Among Natural*.
232. Xie, W.-G., X.-Q. Zhang, H.-W. Cai, W. Liu and Y. Peng. 2010. Genetic diversity analysis and transferability of cereal EST-SSR markers to orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.). *Biochemical Systematics and Ecology* 38:740–749.
233. Xue, Q., Z. Zhu, J.T. Musick, B.A. Stewart and D.A. Dusek. 2006. Physiological mechanisms contributing to the increased water-use efficiency in winter wheat under deficit irrigation. *Journal of plant physiology* 163:154–164.
234. Yokota, A., K. Takahara and K. Akashi. 2006. Water stress. *Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants*. Springer. pp.15–39.
235. Zhang, C., M. Sun, X. Zhang, S. Chen, G. Nie, Y. Peng, L. Huang and X. Ma. 2018. AFLP-based genetic diversity of wild orchardgrass germplasm collections from Central Asia and Western China, and the relation to environmental factors. *PLOS ONE* 13:e0195273.
236. Zhang, X., S. Chen, H. Sun, Y. Wang and L. Shao. 2010. Water use efficiency and associated traits in winter wheat cultivars in the North China Plain. *Agricultural Water Management* 97:1117–1125.
237. Zwierzykowski, Z. 2004. Amphiploid and introgression breeding within the *Lolium-Festuca* complex-achievements and perspectives. *Development of a novel grass with environmental stress and high forage quality through intergeneric hybridization between Lolium and Festuca*.

Liste des annexes

1. Annexe : Analyse de la variance de biomasses aériennes fraîches accumulées en 1^{ère} année d'expérimentation.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	Pr(>F)
Génotypes	13	1,4523	0,111712	2,2682	0,03387 *
Résiduelles	28	1,3791	0,049252		

Lsd (5%)=0,71

Génotypes	Moyennes	Groupes homogènes
Lud	0,77	a
Med	0,48	ab
FE5725	0,38	
Cen	0,37	
FE5729	0,36	
Bnck	0,36	
Bfd	0,30	
Lut	0,29	
Rdj	0,28	
FE5722	0,19	
Edk	0,16	
Anc	0,10	
FE5718	0,05	b
FE5721	0,02	

2. Annexe : Analyse de la variance de biomasses aériennes sèches accumulées en 1^{ère} année d'expérimentation.

Source de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	Pr(>F)
Génotypes	13	0,85452	0,065733	2,075	0,05154
Résiduelles	28	0,88698	0,031678		

3. Annexe : Analyse de la variance de biomasses aériennes fraîches accumulées en 2^{ème} année d'expérimentation.

Source de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	Pr(>F)
Génotypes	7	185,71	26,53	1,8731	0,09496
saisons	2	1088,28	544,14	38,4178	1,091e-10 ***

Génotypes* saisons	14	108,22	7,73	0,5458	0,89225
Résiduelles	48	679,86	14,16		

Lsd (5%) = 12,47

Génotypes : saisons	Moyennes	Groupes homogènes
Bnck:3	14,50	a
Cen:3	11,63	ab
Anc:3	11,62	
Bfd:3	11,06	
Edk:3	10,23	
FE5725:3	8,57	
Rdj:3	8,41	
Anc:2	7,32	
Bnck:2	5,06	
Med:3	4,48	
Cen:2	4,27	
Rdj:2	4,21	
Bfd:2	2,84	
Anc:1	2,24	
FE5725:2	1,89	b
Edk:2	1,83	
Edk:1	0,98	
Rdj:1	0,76	
Cen:1	0,72	
Bnck:1	0,66	
Bfd:1	0,65	
Med:2	0,41	
Med:1	0,38	
FE5725:1	0,10	

4. Annexe : Analyse de la variance de biomasses aériennes sèches accumulées en 2^{ème} année d'expérimentation.

Source de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	Pr(>F)
Génotypes	7	23,611	3,373	2,930	0,0123 *
Saisons	2	112,748	56,374	48,971	2,567e-12 ***
Génotypes* saisons	14	18,502	1,322	1,148	0,3441
Résiduelles	48	55,257	1,151		

Lsd (5%) = 3,56

Génotypes : saisons	Moyennes	Groupes homogènes
Bnck:3	4,64	a
Bfd:3	4,30	ab
Anc:3	3,71	abc

Cen:3	3,25	abcd
Anc:2	3,09	
Edk:3	2,71	
Rdj:3	2,66	
FE5725:3	2,29	
Cen:2	1,51	
Rdj:2	1,49	
Med:3	1,40	
Bnck:2	1,38	
Bfd:2	1,07	bcd
Edk:2	0,65	cd
FE5725:2	0,45	
Anc:1	0,24	
Bnck:1	0,16	
Cen:1	0,09	d
Med:2	0,08	
Bfd:1	0,07	
Rdj:1	0,07	
Edk:1	0,04	
FE5725:1	0,02	
Med:1	0,01	

5. Annexe : Analyse de la variance de biomasses aériennes fraîches accumulées au cours des deux ans d'expérimentation.

Source de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	Pr(>F)
Génotypes	7	28,48	4,068	0,3256	0,936628
Années	1	240,70	240,701	19,2670	0,000116 ***
Génotypes*années	7	33,74	4,821	0,3859	0,903731
Résiduelles	32	399,77	12,493		

Lsd (5%)=11,37

Génotypes : années	Moyennes	Groupes homogènes
Anc:2	7,06	
Bnck:2	6,74	
Cen:2	5,54	
Bfd:2	4,85	
Rdj:2	4,46	
Edk:2	4,35	
FE5725:2	3,52	
Med:2	1,76	
Med:1	0,48	a
FE5725:1	0,38	
Cen:1	0,37	
Bnck:1	0,36	
Bfd:1	0,30	
Rdj:1	0,28	
Edk:1	0,16	
Anc:1	0,10	

6. Annexe : Analyse de la variance de biomasses aériennes sèches accumulées au cours des deux ans d'expérimentation.

Source de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	Pr(>F)
Génotypes	7	3,202	0,4575	0,3299	0,934477
années	1	18,103	18,103	13,0557	0,001024 **
Génotypes*années	7	4,922	0,7031	0,5071	0,822260
Résiduelles	32	44,371	1,3866		

Lsd (5%) = 3, 79

Génotypes : Années	Moyennes	Groupes homogènes
Anc:2	2,35	
Bnck:2	2,06	
Bfd:2	1,82	
Cen:2	1,61	
Rdj:2	1,40	
Edk:2	1,13	
FE5725:2	0,92	
Med:2	0,50	a
FE5725:1	0,39	
Med:1	0,36	
Cen:1	0,33	
Bnck:1	0,26	
Bfd:1	0,23	
Rdj:1	0,18	
Edk:1	0,14	
Anc:1	0,08	

7. Annexe : Matrice de distances euclidiennes entre géotypes faite sur la base de rendements secs accumulés durant toute l'expérimentation.

Géotypes	Anc	Cen	Edk	Rdj	FE5725	Med	Bfd
Cen	10,86						
Edk	11,62	12,12					
Rdj	7,35	9,06	9,11				
FE5725	14,56	9,80	10,34	8,60			
Med	17,61	12,08	10,72	12,96	7,48		
Bfd	11,45	10,91	10,20	9,33	9,43	12,92	
Bnck	8,49	12,41	12,85	8,37	12,65	17,20	8,54

8. Annexe : Matrice de distances euclidiennes entre géotypes faite sur la base de rendements secs accumulés durant la 3eme saison de la 2^{eme} année d'expérimentation.

Géotypes	Anc	Cen	Edk	Rdj	FE5725	Med	Bfd
Cen	4,58						
Edk	5,10	7,81					
Rdj	2,45	4,12	3,74				
FE5725	5,74	5,10	4,58	3,32			
Med	7,28	5,48	7,14	5,39	3,74		
Bfd	6,16	7,14	5,48	5,10	5,39	9,00	
Bnck	4,36	7,35	6,40	5,39	7,87	10,68	4,58

9. Annexe : Analyse de la variance de la hauteur végétative à la coupe en 1^{ère} année d'expérimentation.

Source de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	Pr(>F)
Génotypes	13	648,97	49,921	1,2492	0,2991
Résiduelles	28	1118,93	39,962		

10. Annexe : Analyse de la variance de la hauteur végétative à la coupe en 2^{ème} année d'expérimentation.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	Pr(>F)
Génotypes	7	4922,2	703,2	8,3794	1,174e-06 ***
Saisons	2	29550,0	14775,0	176,0687	< 2,2e-16 ***
Génotypes: Saisons	14	2479,6	177,1	2,1106	0,0281 *
Résiduelles	48	4028,0	83,9		

Lsd (5%) =30, 36

Génotypes : saisons	Moyennes	Groupes homogènes
Cen:2	81,73	a
Cen:3	76,34	ab
FE5725:3	75,22	
FE5725:2	63,60	abc
Bfd:3	61,76	
Rdj:3	58,73	
Anc:2	58,30	
Anc:3	58,17	
Bnck:3	58,13	
Edk:3	56,36	
Rdj:2	50,21	bcd
Bnck:2	43,22	cde
Med:2	41,72	
Med:3	41,66	
Edk:2	40,57	cdef
Bfd:2	40,32	
FE5725:1	21,59	defg
Bnck:1	16,57	efg
Anc:1	16,23	
Cen:1	13,40	
Rdj:1	13,28	
Bfd:1	13,06	

Edk:1	10,64	fg
Med:1	9,33	g

11. Annexe : Analyse de la variance de la hauteur végétative à la coupe au cours des deux ans d'expérimentation.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	Pr(>F)
Génotypes	7	1120,8	160,1	0,4633	0,8536
Années	1	7268,8	7268,8	21,0316	6,591e-05 ***
Génotypes: Années	7	671,9	96,0	0,2777	0,9581
Résiduelles	32	11059,6	345,6		

Lsd (5%) =59, 78

Génotypes : Années	Moyennes	Groupes homogènes
Cen:2	57,15	a
FE5725:2	53,47	
Anc:2	44,23	
Rdj:2	40,74	
Bnck:2	39,31	
Bfd:2	38,38	
Edk:2	35,86	
Med:2	30,91	
Cen:1	21,63	
Med:1	20,39	
FE5725:1	19,38	
Rdj:1	18,35	
Bfd:1	18,17	
Anc:1	16,42	
Bnck:1	15,26	
Edk:1	13,55	

12. Annexe : Analyse de la variance de l'épiaison au cours de la 1^{ère} année d'expérimentation.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	Pr(>F)
Génotypes	9	33967	3774,1	0,6711	0,7183
Résiduelles	8	44993	5624,1		

13. Annexe : Analyse de la variance de l'épiaison au cours de la 2^{ème} année d'expérimentation.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	Pr(>F)
Génotypes	7	6003,3	857,62	1,0203	0,4541
Résiduelles	16	13449,2	840,57		

14. Annexe : Analyse de la variance de l'épiaison au cours des deux ans d'expérimentation.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	Pr(>F)
Génotypes	5	4513	903	0,2662	0,927109
Années	1	43368	43368	12,7919	0,001524 **
Génotypes: années	5	6144	1229	0,3625	0,869061
Résiduelles	24	81366	3390		

Lsd (5%) = 183, 32

Génotypes : années	Moyennes	Groupes homogènes
Bnck:2	147,50	a
FE5725:2	144,33	
Bfd:2	139,00	
Edk:2	139,00	
Cen:2	138,33	
Anc:2	135,33	
Edk:1	96,67	
Cen:1	96,00	
Bfd:1	92,67	
Anc:1	48,00	
FE5725:1	48,00	
Bnck:1	45,67	

15. Annexe : Analyse de la variance du taux de recouvrement (pérennité) au cours de la 1^{ère} année d'expérimentation.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	Pr(>F)
Génotypes	13	11190,0	860,77	2,5766	0,01747 *
Résiduelles	28	9354,1	334,07		

Lsd (5%) = 58, 19

Génotypes	Moyennes	Groups homogènes
Cen	60,53	a
FE5729	56,43	
Anc	52,40	
FE5725	47,69	
Rdj	43,66	
Lud	41,89	
Edk	32,87	
Bfd	30,54	
Lut	29,42	
Med	26,50	
Bnck	24,03	
FE5721	12,89	
FE5722	11,77	
FE5718	7,32	

16. Annexe: Analyse de la variance du taux de recouvrement (pérennité) au cours de la 2^{ème} année d'expérimentation.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	Pr(>F)
Génotypes	7	7640,6	1091,52	4,2745	0,0009686 ***
Saisons	2	1936,0	968,02	3,7909	0,0296090 *
Génotypes : Saisons	14	577,8	41,27	0,1616	0,9996953
Résiduelles	48	12257,1	255,36		

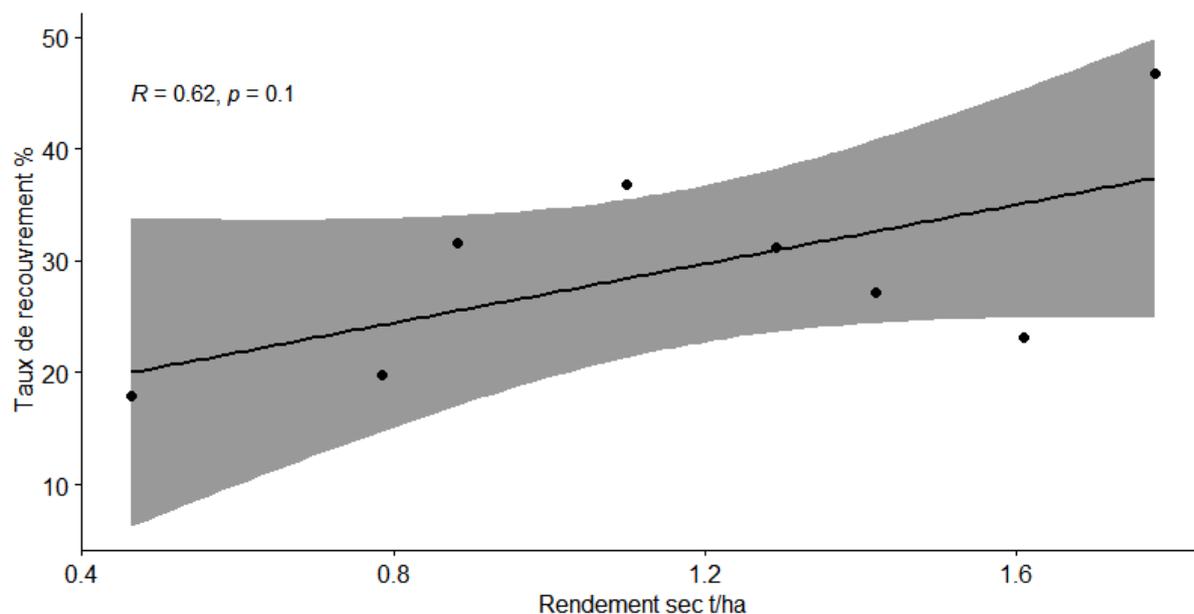
17. Annexe : Analyse de la variance du taux de recouvrement (pérennité) au cours des deux ans d'expérimentation.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	Pr(>F)
Génotypes	7	3737,1	533,87	4,3609	0,0017180 **
années	1	2344,5	2344,52	19,1512	0,0001204 ***
Génotypes : années	7	2485,1	355,01	2,8999	0,0182466 *
Résiduelles	32	3917,5	122,42		

Lsd (5%) = 35, 58

Génotypes : saisons: années	Moyennes	Groupes homogènes
Cen:1:1	60,53	a
Anc:1:1	52,40	
Anc:2:2	50,61	
Anc:3:2	48,92	
FE5725:1:1	47,69	
Rdj:1:1	43,66	
Rdj:2:2	39,05	
Rdj:3:2	38,36	
Anc:4:2	35,09	
Edk:1:1	32,87	
Edk:2:2	32,24	
Edk:3:2	31,62	
Bfd:1:1	30,54	
Bnck:2:2	29,85	
Bfd:2:2	29,80	
Edk:4:2	29,78	ab
Bfd:3:2	26,99	
Med:1:1	26,50	
Rdj:4:2	26,09	
Cen:2:2	25,89	
Med:2:2	25,48	
Cen:3:2	25,19	
Bnck:1:1	24,03	
Bfd:4:2	21,48	
Bnck:3:2	19,56	
Bnck:4:2	19,31	
Med:3:2	17,74	
FE5725:2:2	15,59	
Cen:4:2	12,92	
FE5725:3:2	12,34	
FE5725:4:2	3,39	b
Med:4:2	1,90	

18. Annexe : Test de corrélation de "Pearson" entre le rendement sec accumulé (t/ha) et le taux de recouvrement (%)



19. Annexe : Analyse de la variance de l'efficace d'utilisation d'eau en 2^{eme} année d'expérimentation

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	Pr(>F)
Génotypes	7	1288	184	2,003	0,0742
Saisons	2	16041	8020	87,275	<2e-16 ***
Génotypes: Saisons	14	1686	120	1,310	0,2366
Résiduelles	48	4411	92		

Lsd (5%) = 31, 77

Génotypes : Saisons	Moyennes	Groupes homogènes
Bnck:3	49,88	a
Bfd:3	46,23	ab
Anc:3	39,86	abc
Cen:3	34,93	abcd
Edk:3	29,14	abcde
Rdj:3	28,57	
FE5725:3	24,57	
Med:3	15,08	bcde
Anc:2	9,48	cde
Cen:2	4,63	de
Rdj:2	4,57	
Bnck:2	4,23	
Bfd:2	3,30	

Edk:2	1,98	e
FE5725:2	1,38	
Anc:1	0,81	
Bnck:1	0,54	
Cen:1	0,29	
Med:2	0,25	
Bfd:1	0,25	
Rdj:1	0,23	
Edk:1	0,12	
FE5725:1	0,07	
Med:1	0,03	

20. Annexe: Matrice de distances euclidiennes entre génotypes faite sur la base des résultats obtenus à partir de tous les variables testés durant l'expérimentation.

Génotypes	Anc	Cen	Edk	Rdj	FE5725	Med	Bfd
Cen	6,24						
Edk	10,10	7,42					
Rdj	7,21	4,36	3,74				
FE5725	14,11	9,80	10,82	10,44			
Med	13,42	12,12	10,30	10,95	12,69		
Bfd	7,07	4,58	5,48	4,47	8,89	10,20	
Bnck	14,35	11,96	12,17	12,41	9,33	17,49	9,59

21. Annexe : Résultats d'analyses en composantes principales pour les différents génotypes et variables.

Génotypes /variables	Dist	Dim.1	ctr	cos2	Dim.2	ctr	cos2	Dim.3	ctr	cos2
Anc	2,895	2,500	28,027	0,745	-0,114	0,103	0,002	0,441	2,899	0,023
Cen	1,834	1,206	6,526	0,433	-0,030	0,007	0,000	1,148	19,659	0,392
Edk	2,194	-0,228	0,233	0,011	-1,709	23,269	0,607	-0,950	13,460	0,188
Rdj	1,613	0,695	2,168	0,186	-1,233	12,098	0,584	0,214	0,685	0,018
FE5725	2,868	-1,836	15,116	0,410	1,628	21,108	0,322	1,268	23,977	0,196
Med	3,533	-3,208	46,172	0,825	-0,817	5,312	0,053	-0,134	0,267	0,001
Bfd	0,789	0,357	0,572	0,205	0,088	0,062	0,012	-0,427	2,712	0,292
Bnck	2,740	0,514	1,186	0,035	2,186	38,042	0,636	-1,561	36,341	0,325
Rdt.frais		0,910	29,690	0,827	0,306	5,977	0,094	-0,133	2,113	0,018
Rdt.sec		0,882	27,906	0,778	0,311	6,179	0,097	-0,227	6,141	0,051
Recouvrement (%)		0,837	25,147	0,701	-0,461	13,550	0,213	0,064	0,495	0,004
EUE		-0,502	9,032	0,252	0,694	30,698	0,482	0,194	4,506	0,038
Epiaison		0,047	0,079	0,002	0,769	37,696	0,592	-0,307	11,221	0,094
HVC (cm)		0,476	8,145	0,227	0,304	5,900	0,093	0,796	75,524	0,633

22. Annexe : Dosage de la chlorophylle foliaire

L'extraction de la chlorophylle des végétaux est estimée à partir d'une solution chlorophyllienne obtenue à partir d'une masse de 100 mg de matière végétale fraîche qui est broyée manuellement dans un mortier en porcelaine avec 10 ml d'acétone à 80 %. Le broyat obtenu est filtré et mis dans des tubes, et est ensuite centrifugé à 4000 tr/mn pendant 10 mn. Le surnageant contenant les pigments est récupéré. Les densités optiques sont lues aux longueurs d'ondes 663, 645nm, et 470nm respectivement pour l'estimation de la chlorophylle a, b, et caroténoïdes. Les teneurs en chlorophylle a et b sont déterminées selon les équations de (Arnon, 1949)

- **Chl a** = 12,7 * DO 663 – 2.69 * DO 645 (µg/ml).
- **Chl b** = 22.9 * DO 645 – 4.68 * DO 663 (µg/ml).
- **Chl a+b** = 8, 02 (DO 645) + 20, 20 (DO 663) (µg/ml).

Avec:

DO 663 : Densité optique lue à la longueur d'onde de 663nm.

DO 645 : Densité optique lue à la longueur d'onde de 645nm.

DO 470 : Densité optique lue à la longueur d'onde de 470nm

23. Annexe : Dosage de la proline

Le dosage a été réalisé par la méthode de (Troll and Lindsley, 1955) qui est rapportée par (Monneveux and Nemmar, 1986). Le dosage de la proline était réalisé à partir de 100 mg de matière végétale fraîche (MVF). Les échantillons sont introduits respectivement dans des tubes à essai propres auxquels sont ajoutés 2 ml de méthanol à 40 %. L'ensemble est chauffé au bain-marie à 85° C pendant 60 mn. Après refroidissement, 1 ml de l'extrait est prélevé et auquel 1 ml d'acide acétique est ajouté (CH₃COOH) puis 1 ml du réactif de ninhydrine. Le mélange est placé dans un bain marie pendant 30 mn, jusqu'à l'apparition d'une coloration rose, laisser se refroidir et sur lequel 5 ml de Toluène sont ajoutés dans chaque tube : c'est à ce moment qu'on remarque la différenciation des deux phases, la phase supérieure qui contient de la proline et la phase inférieure qui est sans proline. La phase supérieure est récupérée afin de procéder à la détermination des densités optiques des échantillons à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 520 nm.

La concentration de la proline est ensuite déduite à l'aide d'une courbe étalon préalablement établie à partir d'une série de solutions de concentrations de proline déterminées, préparées à partir d'une solution mère de 2000 µg/ml.

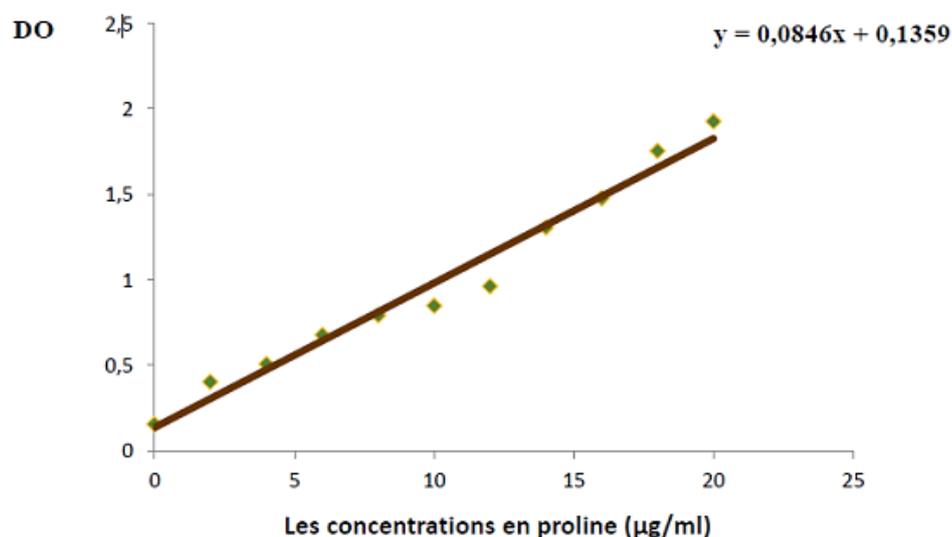


Figure : Courbe de la gamme étalon de la Proline

24. Annexe : Dosage des sucres solubles totaux

Les sucres solubles totaux (saccharose, glucose, fructose, leurs dérivés méthyles et les polysaccharides) sont dosés par la méthode au phénol de Dubois *et al.*, (1956). Elle consiste à mettre 100 mg de MVF découpées dans les tubes à essais remplis à 2/3 par l'éthanol à 80%, et laisser macérer à température ambiante et à obscurité pendant 48h. L'extrait obtenu après évaporation de l'éthanol est dilué avec 20ml d'eau distillée à partir duquel 2ml sont prélevés et mis dans un tube à essai. La réaction étant exothermique, ce dernier est placé dans un bac à glace. Un volume de 4ml de réactif à l'antrone y est alors ajouté. Après agitation, le tube est mis au bain Marie à 90°C pendant 8 minutes. Au bout de ce temps, les tubes sont mis à l'obscurité pour éviter l'oxydation des sucres puis refroidis dans la glace pendant 30 minutes. Les densités optiques sont lues à l'aide d'un spectrophotomètre à la longueur d'onde de 585 nm et les concentrations de sucres sont déterminées à partir d'une courbe étalon

Remarque : pour l'estimation de la teneur en sucres solubles et proline, des dilutions ont été effectuées pour tous les géotypes car plus la solution est concentrée, plus il y a risque qu'elle ne soit pas lisible par le spectrophotomètre.

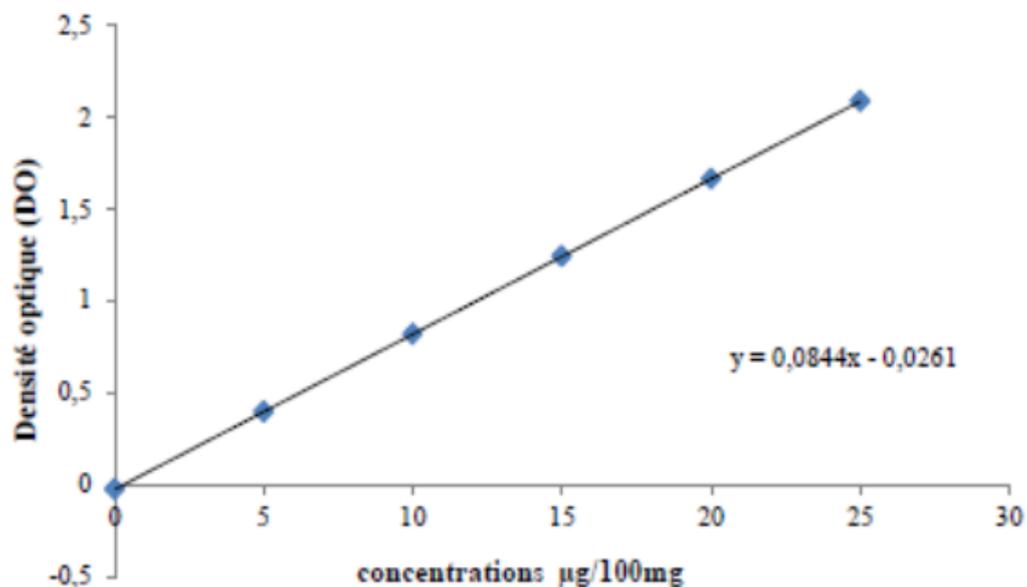


Figure : Courbe de la gamme étalon de sucres solubles totaux

25. Annexe : Détermination de la teneur relative en eau

Le statut hydrique des plantes a été déterminé par la méthode de (Dib and Monneveux, 1992), à partir d'un échantillon de 5 feuilles qui ont été coupé et pesé immédiatement pour obtenir leur poids frais (PF). Ces feuilles sont mises par la suite dans des tubes à essai remplis d'eau distillés à l'obscurité dans un endroit frais, après 6h les feuilles sont retirées dans un papier buvard pour absorber l'eau de la surface, pesées de nouveau pour obtenir le poids de la pleine turgescence (PT). Les échantillons sont enfin mis à l'étuve réglée à 80°C pendant 48h et pesés pour avoir leur poids ses (PS). La teneur relative en eau est calculée par la formule suivante :

$$\text{TRE (\%)} = (\text{PF-PS}) / (\text{PT-PS}) \times 100$$

26. Annexe : Détermination de la stabilité membranaire

La stabilité membranaire est déterminée par la mesure de la perméabilité d'électrolytes libérés quand la membrane est soumise à un choc osmotique.

Le protocole suivi est celui décrit par (Blum and Ebercon, 1981), à partir d'un échantillon de trois feuilles prélevées et lavées à trois reprises par de l'eau distillée afin d'éliminer les électrolytes qui adhèrent à leurs surface, puis découpées en des segments de 1cm de long. Les segments foliaires sont mis à incuber à l'obscurité dans des tubes à essai contenant 10 ml d'eau distillée pendant 24 heures à température ambiante. La première valeur de la conductivité électrique a été mesurée sur les échantillons à l'aide d'un conductimètre (inoLab Cond 7110). Ensuite les tubes à essai contenant les segments sont autoclavés pendant 15 minutes afin d'endommager les tissus des feuilles et libérer les électrolytes. Après refroidissement, la deuxième lecture de la conductivité est effectuée. La première lecture réalisée correspond à la perte d'ions par les tissus végétaux, alors que la seconde lecture correspond à la conductivité des ions totaux présents dans les tissus végétaux.

La stabilité membranaire est calculée en utilisant la formule suivante :

$$\text{CMS \%} = 100(C1/C2)$$

Avec:

C1 : première lecture de la conductivité,

C2: deuxième lecture de la conductivité.

27. Annexe : Analyse de la variance de la surface foliaire en 1^{ere} année d'expérimentation.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F.obs	Pr (>F)
Génotypes	15	905	60,3	1,809	0,03994 *
RH	1	322	322,3	9,659	0,00232 **
Mesures	1	2117	2116,9	63,447	7,78e-13 ***
Génotypes: RH	15	333	22,2	0,665	0,81456
Génotypes: Mesures	15	571	38,1	1,141	0,32681
RH: Mesures	1	108	107,7	3,228	0,07475
Génotypes: RH: Mesures	15	352	23,5	0,703	0,77727
Résiduelles	128	4271	33,4		

Génotypes: RH: Mesures	Moyennes	Groupes homogènes
Lut:NS:M2	30,36	a
Bfd:NS:M2	28,60	
Bfd:S:M2	26,57	
FE5716:NS:M2	25,70	
FE5718:NS:M1	25,27	
Lud:NS:M2	24,77	
FE5721:NS:M2	24,51	
FE5718:NS:M2	23,47	
Anc:NS:M2	22,76	
Med:NS:M2	22,50	
FE5729:NS:M2	22,31	
Med:S:M2	21,11	
FE5721:S:M2	20,85	
Cen:NS:M1	20,82	
Lut:S:M2	20,36	
Edk:NS:M2	20,22	
FE5722:NS:M2	20,22	
Lud:S:M2	20,19	
FE5725:NS:M2	20,08	ab
bnck:NS:M2	20,06	
Cen:NS:M2	19,62	
Anc:NS:M1	19,59	
FE5716:S:M2	19,55	
FE5718:S:M2	19,38	
FE5715:S:M2	19,35	
Anc:S:M2	19,03	
FE5715:NS:M2	17,71	
FE5725:S:M2	17,16	
Lut:S:M1	16,86	
Rdj:NS:M2	16,72	
Anc:S:M1	16,31	
Bfd:S:M1	16,2	
Lud:NS:M1	16,13	
FE5729:S:M2	15,94	
bnck:S:M2	15,79	
Cen:S:M2	15,67	
Rdj:NS:M1	15,39	
bnck:NS:M1	15,27	
FE5722:S:M2	15,1	
Lud:S:M1	14,42	
Edk:S:M2	14,2	
FE5729:S:M1	14,05	
Rdj:S:M2	13,94	
Lut:NS:M1	13,86	
FE5729:NS:M1	13,78	
FE5716:NS:M1	13,59	
Rdj:S:M1	13,39	
FE5715:S:M1	13,24	

FE5716:S:M1	13,01	b
bnck:S:M1	12,99	
Bfd:NS:M1	12,96	
FE5722:S:M1	12,79	
Edk:S:M1	12,67	
FE5721:NS:M1	12,43	
Cen:S:M1	11,81	
FE5721:S:M1	11,78	
Med:S:M1	11,72	
FE5715:NS:M1	11,22	
FE5725:S:M1	10,44	
Edk:NS:M1	10,34	
Med:NS:M1	10,31	
FE5718:S:M1	10,19	
FE5725:NS:M1	9,41	
FE5722:NS:M1	9,01	

28. Annexe : analyse de la variance de la surface foliaire en 2^{eme} année d'expérimentation.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F.obs	Pr (>F)
Génotypes	12	8597	716,5	9,866	1,33e-12 ***
RH	1	759	759,2	10,455	0,00164 **
Mesures	1	169	168,7	2,323	0,13055
Génotypes: RH	12	740	61,6	0,849	0,60047
Génotypes: Mesures	12	375	31,2	0,430	0,94816
RH: Mesures	1	704	704,3	9,699	0,00238 **
Génotypes: RH: Mesures	12	716	59,7	0,822	0,62748
Résiduelles	104	7552	72,6		

Génotypes: RH: Mesures	Moyennes	Groupes homogènes
Lut:NS:M1	65,19	a
Lut:NS:M2	62,43	ab
FE5729:S:M1	59,48	abc
Bfd:S:M2	57,36	
Bfd:NS:M1	55,55	
Lut:S:M2	55,50	
Lut:S:M1	55,46	
FE5718:NS:M1	53,22	
Edk:S:M1	53,18	
FE5729:NS:M2	52,66	
FE5729:NS:M1	52,55	
Edk:NS:M2	51,37	
Bfd:S:M1	51,31	
Bfd:NS:M2	51,12	
FE5718:NS:M2	50,18	
FE5721:NS:M2	48,45	
FE5725:S:M1	47,74	
FE5725:NS:M2	46,51	
FE5729:S:M2	44,79	
FE5716:NS:M2	43,76	
Med:NS:M2	43,58	
Med:NS:M1	43,52	
Edk:NS:M1	43,32	
FE5718:S:M1	42,48	
FE5725:S:M2	42,17	abcd
FE5716:NS:M1	41,80	
Med:S:M1	41,69	
Rdj:S:M1	41,23	
Lud:NS:M2	40,96	
FE5725:NS:M1	40,65	
Anc:NS:M2	40,07	
FE5716:S:M1	40,07	
FE5721:NS:M1	39,95	
Lud:S:M1	39,72	
Cen:NS:M1	39,59	
Cen:NS:M2	39,56	
FE5721:S:M1	39,17	
Edk:S:M2	38,99	
Rdj:NS:M2	38,88	
Anc:NS:M1	37,55	
FE5718:S:M2	37,07	
FE5721:S:M2	36,82	
Cen:S:M1	35,61	
Lud:NS:M1	34,70	
Rdj:S:M2	34,35	bcd
Rdj:NS:M1	33,72	

Anc:S:M2	33,02	
Anc:S:M1	32,06	cd
Cen:S:M2	30,58	
Lud:S:M2	30,22	
FE5716:S:M2	29,62	
Med:S:M2	26,42	d

29. Annexe : Analyse d'interaction entre 1ere et 2^{eme} années d'expérimentation pour la surface foliaire.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	Pr (>F)
Génotypes	12	5452	454	7.748	2.70e-12 ***
RH	1	1079	1079	18.399	2.53e-05 ***
Années	1	52936	52936	902.683	< 2e-16 ***
Génotypes: RH	12	744	62	1.057	0.397
Génotypes: Années	12	3875	323	5.506	2.27e-08 ***
RH: Années	1	37	37	0.638	0.425
Génotypes: RH: Années	12	250	21	0.356	0.977
Résiduelles	260	15247	59		

Lsd (5%) = 18, 54

Génotypes : RH: Années	Moyennes	Groupes homogènes
Lut:NS:A2	63,81	a
Lut:S:A2	55,48	ab
Bfd:S:A2	54,34	abc
Bfd:NS:A2	53,33	abcd
FE5729:NS:A2	52,61	abcde
FE5729:S:A2	52,14	
FE5718:NS:A2	51,70	
Edk:NS:A2	47,35	abcdef
Edk:S:A2	46,08	
FE5725:S:A2	44,95	bcdef
FE5721:NS:A2	44,20	
FE5725:NS:A2	43,58	
Med:NS:A2	43,55	
FE5716:NS:A2	42,78	bcdefg
FE5718:S:A2	39,77	bcdefgh
Cen:NS:A2	39,58	bcdefghi
Anc:NS:A2	38,81	bcdefghij
FE5721:S:A2	38,00	bcdefghijk
Lud:NS:A2	37,83	
Rdj:S:A2	37,79	
Rdj:NS:A2	36,30	cdefghijkl
Lud:S:A2	34,97	defghijklm

FE5716:S:A2	34,84	defghijklmn
Med:S:A2	34,05	efghijklmno
Cen:S:A2	33,09	fghijklmnop
Anc:S:A2	32,54	
FE5718:NS:A1	24,37	ghijklmnopq
Lut:NS:A1	22,11	hijklmnopq
Bfd:S:A1	21,38	
Anc:NS:A1	21,18	ijklmnopq
Bfd:NS:A1	20,78	jklmnopq
Lud:NS:A1	20,45	
Cen:NS:A1	20,22	klmnopq
FE5716:NS:A1	19,64	
Lut:S:A1	18,61	
FE5721:NS:A1	18,47	lmnopq
FE5729:NS:A1	18,05	
Anc:S:A1	17,67	mnpq
Lud:S:A1	17,30	
Med:S:A1	16,42	
Med:NS:A1	16,41	nopq
FE5721:S:A1	16,32	
FE5716:S:A1	16,28	opq
Rdj:NS:A1	16,05	
Edk:NS:A1	15,28	
FE5729:S:A1	15	pq
FE5718:S:A1	14,79	
FE5725:NS:A1	14,74	
FE5725:S:A1	13,80	
Cen:S:A1	13,74	q
Rdj:S:A1	13,66	
Edk:S:A1	13,44	

30. Annexe : analyse de la variance de la biomasse aérienne sèche en 1^{ère} année d'expérimentation.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	Pr (>F)
Génotypes	15	479,84	31,99	2,0315	0,02622 *
RH	1	617,41	617,41	39,2098	3,596e-08 ***
Génotypes: RH	15	304,58	20,31	1,2895	0,23507
Résiduelles	64	1007,77	15,75		

Lsd (5%) = 13,44

Génotypes	Moyennes	Groupes homogènes	
Lud:NS	24,95	a	
FE5721:NS	16,06	ab	
FE5729:NS	15,23		
FE5725:NS	15,09		
Cen:NS	14,52		
FE5718:NS	14,31		
Edk:NS	13,34		
Lut:NS	12,81		
Med:NS	12,11		
Bfd:NS	11,11		b
bnck:NS	10,79		
Bfd:S	10,76		
Lud:S	10,63		
Anc:NS	10,35		
Rdj:NS	9,89		
FE5715:NS	9,61		
FE5722:NS	9,51		
Rdj:S	9		
FE5716:NS	8,57		
FE5729:S	8,55		
FE5718:S	8,48		
bnck:S	8,46		
FE5715:S	7,87		
Anc:S	7,77		
Lut:S	7,53		
Med:S	7,42		
Edk:S	7,29		
FE5722:S	6,93		
FE5725:S	6,84		
FE5721:S	6,79		
Cen:S	6,68		
FE5716:S	6,13		

31. Annexe : Analyse de la variance de la biomasse aérienne sèche en 2^{ème} année d'expérimentation.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	Pr (>F)
Génotypes	12	2088,22	174,02	3,2837	0,001403 **
RH	1	1686,93	1686,93	31,8320	7,035e-07 ***
Génotypes: RH	12	613,33	51,11	0,9645	0,493573
Résiduelles	52	2755,72	52,99		

Lsd (5%) = 24, 26835

Génotypes/régimes hydrique	Moyennes	Groupes homogènes
Lud:NS	38,54	a
FE5718:NS	35,41	
FE5721:NS	34,97	ab
Lud:S	34,30	abc
Cen:NS	29,78	
Bfd:NS	28,24	
Med:NS	27,75	
FE5725:NS	27,096	
FE5716:NS	26,43	
Lut:NS	25,05	
FE5729:NS	24,05	
Edk:NS	21,76	
FE5716:S	21,11	
Rdj:NS	20,42	
FE5718:S	20,18	
Med:S	19,36	
FE5721:S	18,86	
Rdj:S	18,820	
Edk:S	17,47	
FE5725:S	16,95	
FE5729:S	16,13	
Anc:NS	15,85	
Bfd:S	15,73	
Anc:S	14,32	
Lut:S	10,90	bc
Cen:S	10,28	c

32. Annexe : Analyse d'interaction entre 1ere et 2^{eme} années d'expérimentation pour la biomasse aérienne sèche.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	Pr (>F)
Génotypes	12	1950,0	162,5	4,8439	2,784e-06 ***
RH	1	2203,1	2203,1	65,6707	1,092e-12 ***
Années	1	5459,6	5459,6	162,7405	< 2,2e-16 ***
Génotypes: RH	12	523,5	43,6	1,3003	0,2295
Génotypes: Années	12	553,9	46,2	1,3759	0,1892
RH : Années	1	124,3	124,3	3,7043	0,0570
Génotypes: RH: Années	12	348,7	29,1	0,8663	0,5830
Résiduelles	104	3489,0	33,5		

Lsd (5%) = 20, 37

Génotypes : RH : Années	Moyennes	Groupes homogènes
Lud:NS:A2	38,54	a
FE5718:NS:A2	35,41	ab
FE5721:NS:A2	34,97	
Lud:S:A2	34,31	abc
Cen:NS:A2	29,78	abcd
Bfd:NS:A2	28,24	abcde
Med:NS:A2	27,75	abcdef
FE5725:NS:A2	27,10	abcdefg
FE5716:NS:A2	26,44	abcdefgh
Lut:NS:A2	25,05	
Lud:NS:A1	24,95	
FE5729:NS:A2	24,05	
Edk:NS:A2	21,77	
FE5716:S:A2	21,11	
Rdj:NS:A2	20,43	
FE5718:S:A2	20,18	
Med:S:A2	19,36	
FE5721:S:A2	18,87	
Rdj:S:A2	18,82	
Edk:S:A2	17,48	
FE5725:S:A2	16,96	
FE5729:S:A2	16,14	
FE5721:NS:A1	16,06	
Anc:NS:A2	15,85	
Bfd:S:A2	15,73	
FE5729:NS:A1	15,23	
FE5725:NS:A1	15,09	
Cen:NS:A1	14,52	cdefgh
Anc:S:A2	14,33	
FE5718:NS:A1	14,31	
Edk:NS:A1	13,34	defgh
Lut:NS:A1	12,82	
Med:NS:A1	12,12	
Bfd:NS:A1	11,11	
Lut:S:A2	10,90	
Bfd:S:A1	10,76	
Lud:S:A1	10,63	
Anc:NS:A1	10,35	
Cen:S:A2	10,29	
Rdj:NS:A1	9,89	defgh
Rdj:S:A1	9,00	efgh
FE5716:NS:A1	8,57	
FE5729:S:A1	8,55	
FE5718:S:A1	8,48	
Anc:S:A1	7,77	fgh
Lut:S:A1	7,53	

Med:S:A1	7,42	
Edk:S:A1	7,29	
FE5725:S:A1	6,84	gh
FE5721:S:A1	6,79	
Cen:S:A1	6,68	h
FE5716:S:A1	6,13	

33. Annexe : Analyse de la variance de la biomasse racinaire sèche en 2^{ème} année d'expérimentation.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	Pr (>F)
Génotypes	12	1162	97	3,475	0,000851 ***
RH	1	3664	3664	131,446	7,52e-16 ***
Génotypes: RH	12	353	29	1,054	0,416420
Résiduelles	52	1450	28		

Lsd (5%) = 17, 60

Génotypes: RH	Moyennes	Groupes homogènes
Lud:NS	36,73	a
Med:NS	34,31	ab
Anc:NS	30,78	abc
Rdj:NS	25,74	abcd
Bfd:NS	25,52	
Edk:NS	25,23	
FE5716:NS	24,74	
FE5718:NS	21,93	abcde
Cen:NS	21,52	
FE5721:NS	21,32	
FE5729:NS	20,73	
FE5725:NS	20,46	
Anc:S	18,02	bcde
Lut:NS	15,73	cde
Lud:S	13,37	
FE5716:S	12,36	de
Med:S	12,26	
Bfd:S	11,46	
FE5718:S	11,32	
FE5725:S	10,76	de
Edk:S	10,52	
FE5721:S	10,42	
Cen:S	10,27	
FE5729:S	9,93	
Rdj:S	9,85	
Lut:S	5,99	e

34. Annexe : Analyse de la variance du ratio biomasse racinaire et aérienne sèche en 2^{ème} année d'expérimentation.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	Pr (>F)
Génotypes	12	3,552	0,29601	3,449	0,00399 **
Résiduelles	26	2,232	0,08584		

Lsd (5%) = 0,93

Génotypes	Moyennes	Groupes homogènes
Anc	1,69	a
Cen	1,01	ab
Bfd	0,73	b
FE5725	0,65	
FE5716	0,64	
Med	0,63	
Edk	0,62	
FE5729	0,62	
FE5721	0,59	
FE5718	0,58	
Lut	0,58	
Rdj	0,56	
Lud	0,53	

35. Annexe : Analyse de la variance de la teneur relative en eau en 1^{ère} année d'expérimentation.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	Pr (>F)
Génotypes	15	5168	345	3,2071	0,0001669 ***
RH	1	64894	64894	604,0799	< 2,2e-16 ***
Cycles	1	8757	8757	81,5208	2,240e-15 ***
Génotypes: RH	15	7105	474	4,4091	1,259e-06 ***
Génotypes: cycles	15	3058	204	1,8977	0,0289577 *
RH: cycles	1	26422	26422	245,9541	< 2,2e-16 ***
Génotypes: RH: cycles	15	5097	340	3,1632	0,0001996 ***
Résiduelles	128	13750	107		

Génotypes :RH :cycles	Moyennes	Groupes homogènes
Anc:NS:C2	94,67	a
Bfd:NS:C1	94,41	
bnck:NS:C1	94,01	
Med:NS:C1	93,96	
FE5715:NS:C1	92,43	

FE5716:NS:C1	92,17	ab
Anc:NS:C1	92,07	
FE5722:NS:C1	90,86	
Rdj:NS:C1	90,69	
FE5718:NS:C1	90,46	
Edk:NS:C1	89,57	
FE5721:NS:C1	89,41	
Bfd:NS:C2	89,23	
FE5725:NS:C1	88,48	
Cen:NS:C1	87,65	
Edk:NS:C2	86,88	abc
bnck:NS:C2	86,66	
Rdj:NS:C2	85,83	
FE5729:NS:C2	85,42	abcd
Med:NS:C2	84,84	
Lud:NS:C1	84,20	abcde
FE5715:NS:C2	83,57	
FE5722:NS:C2	83,17	abcdef
FE5725:NS:C2	82,91	
Lut:S:C2	81,28	
FE5716:NS:C2	79,72	
FE5725:S:C2	79,53	
FE5721:NS:C2	78,11	
Lut:NS:C1	76,42	abcdefg
Anc:S:C2	76,16	
Cen:S:C2	75,50	
Lud:NS:C2	73,72	
FE5718:NS:C2	73,23	
FE5716:S:C2	69,97	
Edk:S:C2	68,78	
FE5718:S:C2	68,57	abcdefghi
bnck:S:C2	66,58	
Rdj:S:C2	65,67	abcdefghij
Bfd:S:C2	65,02	
FE5729:NS:C1	63,16	abcdefghijkl
FE5729:S:C2	61,06	
FE5722:S:C2	58,68	abcdefghijklm
Lud:S:C2	55,29	
FE5721:S:C2	50,58	cdefghijklmn
FE5715:S:C2	48,71	
Cen:NS:C2	47,37	efghijklmn
Med:S:C2	46,36	
FE5718:S:C1	40,61	ghijklmn
Anc:S:C1	40	
Lut:NS:C2	35,36	hijklmn
Bfd:S:C1	31,79	
FE5721:S:C1	30,00	ijklmn

FE5715:S:C1 Lud:S:C1	29,52 29,33	klmn
Cen:S:C1 Med:S:C1 Edk:S:C1	27,42 26,27 26,19	lmn
bnck:S:C1 FE5725:S:C1 Rdj:S:C1 FE5722:S:C1 Lut:S:C1	26,05 25,68 25,21 24,63 24,12	mn
FE5716:S:C1 FE5729:S:C1	20,04 19,41	n

36. Annexe : Analyse de la variance de la teneur relative en eau en 2^{eme} année d'expérimentation.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	Pr (>F)
Génotypes	12	2414	201	3,7695	9,431e-05 ***
RH	1	134494	134494	2520,5733	< 2,2e-16 ***
Cycles	1	79	79	1,4760	0,2271574
Génotypes: RH	12	1827	152	2,8527	0,0019934 **
Génotypes: cycles	12	1720	143	2,6861	0,0034555 **
RH: cycles	1	727	727	13,6300	0,0003566 ***
Génotypes: RH: cycles	12	1512	126	2,3611	0,0099740 **

Lsd (5%) = 25, 68

Génotypes : RH: cycles	Moyennes	Groupes homogène
Bfd:NS:C1	93,65	a
Edk:NS:C1	93,06	
Anc:NS:C1	90,93	
Cen:NS:C1	90,71	
Lud:NS:C1	90,57	
Med:NS:C2	88,10	
Med:NS:C1	87,68	
Edk:NS:C2	86,81	
FE5718:NS:C1	86,81	
FE5725:NS:C1	86,29	
Anc:NS:C2	85,07	
Rdj:NS:C2	84,38	
FE5729:NS:C2	83,12	
Lut:NS:C1	82,84	
FE5721:NS:C1	80,37	
Bfd:NS:C2	79,98	
FE5716:NS:C1	79,83	
Lut:NS:C2	79,35	

Cen:NS:C2	78,48	ab	
Rdj:NS:C1	78,45		
FE5729:NS:C1	78,11		
FE5718:NS:C2	77,54		
Lud:NS:C2	76,70		
FE5716:NS:C2	75,46		
FE5721:NS:C2	75,38		
FE5725:NS:C2	74,33		
FE5721:S:C2	53,28	bc	
Cen:S:C1	35,23	cd	
Edk:S:C2	33,78	cde	
FE5718:S:C2	32,31		
Anc:S:C1	29,72		
FE5725:S:C1	29,11		
Anc:S:C2	28,15		
Bfd:S:C1	27,49		de
Edk:S:C1	26,67		
Med:S:C1	26,24		
FE5718:S:C1	25,65		
FE5716:S:C2	25,55		
Lut:S:C2	25,50		
Cen:S:C2	24,60		
FE5721:S:C1	23,06		
Rdj:S:C2	21,88		
Bfd:S:C2	21,25		
Lud:S:C2	21,07		
FE5725:S:C2	20,78		
Rdj:S:C1	20,19		
Lut:S:C1	16,71		
FE5729:S:C1	16,61		
Med:S:C2	16,43		
Lud:S:C1	14,00		
FE5729:S:C2	12,82		
FE5716:S:C1	9,06	e	

37. Annexe : Analyse d'interaction entre 1^{ere} et 2^{eme} années d'expérimentation pour la teneur relative en eau.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	Pr (>F)
Génotypes	12	5235	436	1.854	0.0404 *
RH	1	169900	169900	722.118	< 2e-16 ***
Années	1	9003	9003	38.265	2.39e-09 ***
Génotypes : RH	12	4359	363	1.544	0.1087
Génotypes : Années	12	2171	181	0.769	0.6822
RH: Années	1	11332	11332	48.163	3.12e-11 ***
Génotypes: RH: Années	12	3573	298	1.265	0.2393
Résiduelles	260	61173	235		

Lsd (5%) = 37.14

Génotypes : RH: Années	Moyennes	Groupes homogènes
Anc:NS:A1	93,37	a
Bfd:NS:A1	91,82	ab
Edk:NS:A2	89,94	abc
Med:NS:A1	89,40	abcd
Rdj:NS:A1	88,26	abcde
Edk:NS:A1	88,22	
Anc:NS:A2	87,99	
Med:NS:A2	87,89	
Bfd:NS:A2	86,812	
FE5716:NS:A1	85,95	
FE5725:NS:A1	85,70	
Cen:NS:A2	84,59	abcdef
FE5721:NS:A1	83,76	
Lud:NS:A2	83,63	
FE5718:NS:A2	82,17	abcdefg
FE5718:NS:A1	81,84	abcdefgh
Rdj:NS:A2	81,41	
Lut:NS:A2	81,09	
FE5729:NS:A2	80,62	
FE5725:NS:A2	80,31	
Lud:NS:A1	78,96	
FE5721:NS:A2	77,87	
FE5716:NS:A2	77,65	
FE5729:NS:A1	74,29	abcdefghij
Cen:NS:A1	67,51	abcdefghijkl
Anc:S:A1	58,08	abcdefghijkl
Lut:NS:A1	55,89	
FE5718:S:A1	54,59	cdefghijklm
Lut:S:A1	52,70	defghijklmn
FE5725:S:A1	52,61	defghijklmn
Cen:S:A1	51,46	efghijklmno
Bfd:S:A1	48,41	fghijklmno
Edk:S:A1	47,49	
Rdj:S:A1	45,44	ghijklmno
FE5716:S:A1	45	hijklmno
Lud:S:A1	42,31	ijklmno
FE5721:S:A1	40,29	jklmno
FE5729:S:A1	40,23	
FE5721:S:A2	38,17	
Med:S:A1	36,31	klmno

Edk:S:A2	30,22	lmno
Cen:S:A2	29,91	
FE5718:S:A2	28,98	
Anc:S:A2	28,94	
FE5725:S:A2	24,94	
Bfd:S:A2	24,37	
Med:S:A2	21,34	
Lut:S:A2	21,11	lmno
Rdj:S:A2	21,04	
Lud:S:A2	17,54	mno
FE5716:S:A2	17,31	no
FE5729:S:A2	14,72	o

38. Annexe : Analyse de la variance de la stabilité membranaire en 1^{ère} année d'expérimentation.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	Pr (>F)
Génotypes	15	8371	558	1,816	0,03896 *
RH	1	45459	45459	147,896	< 2e-16 ***
cycles	1	3559	3559	11,580	0,00089 ***
Génotypes: RH	15	5933	396	1,287	0,21967
Génotypes: cycles	15	15925	1062	3,454	6,1e-05 ***
RH: cycles	1	1989	1989	6,472	0,01215 *
Génotypes: RH: cycles	15	11673	778	2,532	0,00255 **
Résiduelles	128	39343	307		

Génotypes : RH : cycles	Moyennes	Groupes homogènes
Cen:NS:C2	93,75	a
FE5716:NS:C2	93,75	
FE5721:NS:C2	92,86	ab
FE5718:NS:C2	91,67	
FE5729:NS:C1	91,29	abc
FE5725:NS:C1	90,28	
Cen:S:C2	90	
Edk:NS:C2	87,50	
Lud:NS:C2	87,50	abcd
FE5721:NS:C1	86,96	
Lut:NS:C1	86,27	
FE5722:NS:C2	86,11	
FE5729:NS:C2	85,00	
Lud:NS:C1	83,93	abcd

Anc:NS:C2 bnck:NS:C2 FE5716:S:C2 FE5715:NS:C1 FE5722:NS:C1 FE5725:NS:C2 FE5716:NS:C1 Bfd:NS:C2	83,33 83,33 83,33 82,39 82,14 81,67 80,29 80	abcde
FE5725:S:C2 FE5729:S:C2 Edk:NS:C1 FE5718:S:C2 Rdj:NS:C1 bnck:NS:C1 bnck:S:C2 Cen:NS:C1 FE5722:S:C1 Bfd:NS:C1 FE5718:NS:C1 Anc:NS:C1 Med:NS:C2 Med:NS:C1 Rdj:NS:C2 Edk:S:C2	80,00 78,57 78,47 77,50 75,93 75,00 75,00 73,27 72,86 72,27 72,09 71,65 70,83 70,30 70,00 67,50	abcde
FE5715:NS:C2 Bfd:S:C2 Bfd:S:C1 Lut:NS:C2 FE5715:S:C1 Rdj:S:C1 FE5715:S:C2 Anc:S:C1 FE5721:S:C2 Lud:S:C1 Anc:S:C2 Med:S:C2 bnck:S:C1 Lut:S:C2 FE5718:S:C1 FE5716:S:C1 FE5722:S:C2 FE5725:S:C1 FE5721:S:C1 Edk:S:C1	62,50 61,43 57,57 57,50 56,26 53,68 53,33 50,98 50,00 48,64 48,57 46,43 43,82 41,96 40,29 40,00 37,50 35,43 34,81 33,96	abcdef
Med:S:C1	30,72	bcdef
Cen:S:C1	29,76	cdef
Lut:S:C1 Rdj:S:C2	27,15 26,79	def

FE5729:S:C1	21,21	ef
Lud:S:C2	0	f

39. Annexe : Analyse de la variance de la stabilité membranaire en 2^{eme} année d'expérimentation.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	Pr (>F)
Génotypes	12	3475	290	2,401	0,00877 **
RH	1	79656	79656	660,458	< 2e-16 ***
Cycles	1	74	74	0,617	0,43390
Génotypes: RH	12	3758	313	2,597	0,00463 **
Génotypes: cycles	12	2147	179	1,484	0,14201
RH: cycles	1	4912	4912	40,730	4,95e-09 ***
Génotypes: RH: cycles	12	4272	356	2,952	0,00144 **
Résiduelles	104	12543	121		

Lsd (5%) 38, 61

Génotypes: RH : Cycles	Moyennes	Groupes homogènes
FE5716:NS:C1	96,95	a
Lut:NS:C2	96,53	
FE5716:NS:C2	94,07	ab
FE5729:NS:C2	93,90	
Rdj:NS:C2	93,25	
FE5725:NS:C2	93,16	
FE5718:NS:C2	92,56	
FE5721:NS:C2	92,01	
FE5721:NS:C1	91,83	
Cen:NS:C2	91,79	
FE5729:NS:C1	91,37	
Lud:NS:C2	89,63	
Med:NS:C2	87,59	
FE5718:NS:C1	86,46	abcd
Edk:NS:C1	86,30	
Anc:NS:C2	85,71	abcde
Bfd:NS:C2	85,23	abcdef
Lut:NS:C1	84,23	abcdefg
FE5725:NS:C1	83,48	
Edk:NS:C2	83,28	
Bfd:NS:C1	78,15	abcdefgh
Anc:NS:C1	75,16	abcdefghi
Cen:NS:C1	75,00	
Lud:NS:C1	74,64	abcdefghij
Cen:S:C1	70,71	abcdefghijkl
Med:NS:C1	65,83	abcdefghijkl
Rdj:NS:C1	61,38	
Edk:S:C1	61,00	

FE5725:S:C1	57,35	bcdefghijklm
Anc:S:C1	56,35	
FE5721:S:C2	50,54	cdefghijklmn
Rdj:S:C1	47,78	defghijklmn
FE5716:S:C2	47,26	efghijklmn
FE5729:S:C1	46,89	fghijklmn
Bfd:S:C1	46,40	ghijklmn
Bfd:S:C2	43,21	
FE5718:S:C2	42,37	
Lut:S:C1	41,93	hijklmn
FE5725:S:C2	41,80	
Med:S:C1	40,77	
FE5718:S:C1	39,77	
FE5721:S:C1	39,40	ijklmn
Anc:S:C2	36,18	jklmn
Edk:S:C2	35,29	klmn
Cen:S:C2	33,53	
Lud:S:C1	30,49	
FE5716:S:C1	30,30	
Rdj:S:C2	28,33	lmn
Med:S:C2	28,15	
Lut:S:C2	21,64	mn
Lud:S:C2	21,58	
FE5729:S:C2	15,43	n

40. Annexe : Analyse d'interaction entre 1ere et 2^{eme} années d'expérimentation pour la stabilité membranaire.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	Pr (>F)
Génotypes	12	10065	839	2,541	0,00346 **
RH	1	118534	118534	359,091	< 2e-16 ***
Années	1	188	188	0,568	0,45157
Génotypes: RH	12	6494	541	1,639	0,08096 ,
Génotypes: Années	12	1274	106	0,322	0,98512
RH: Années	1	3009	3009	9,114	0,00279 **
Génotypes: RH: Années	12	2150	179	0,543	0,88550
Résiduelles	260	85824	330		

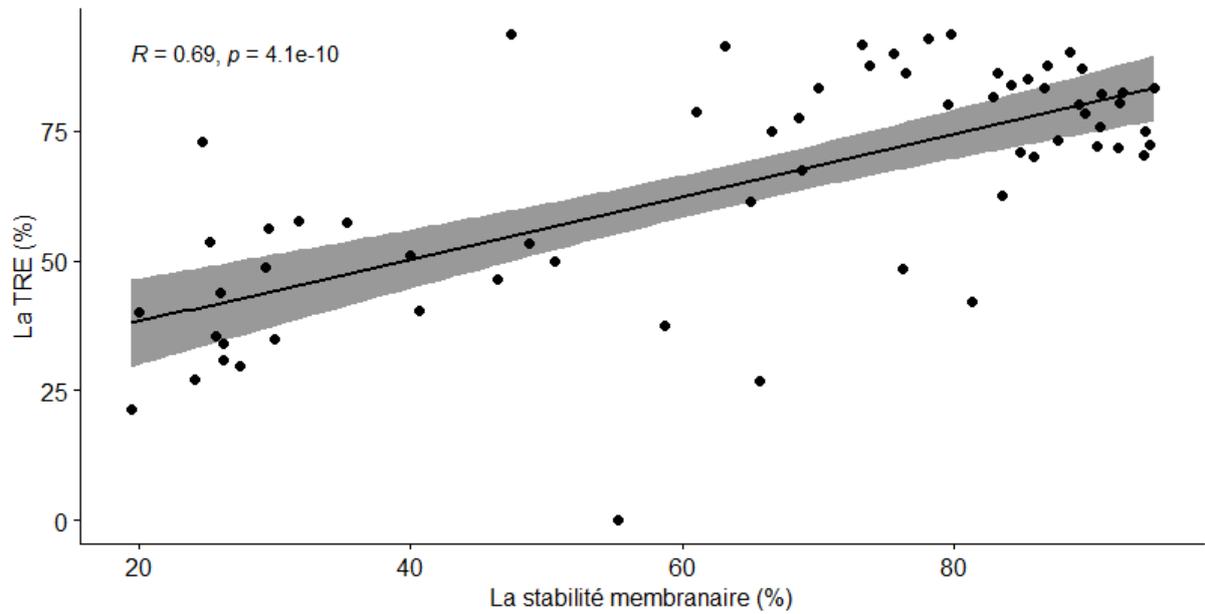
Lsd (5%) = 43,99

Génotypes: RH : Années	Moyennes	Groupes homogènes
FE5716:NS:A2	95,51	a
FE5729:NS:A2	92,63	ab
FE5721:NS:A2	91,92	abc
Lut:NS:A2	90,38	
FE5721:NS:A1	89,91	abcd
FE5718:NS:A2	89,51	

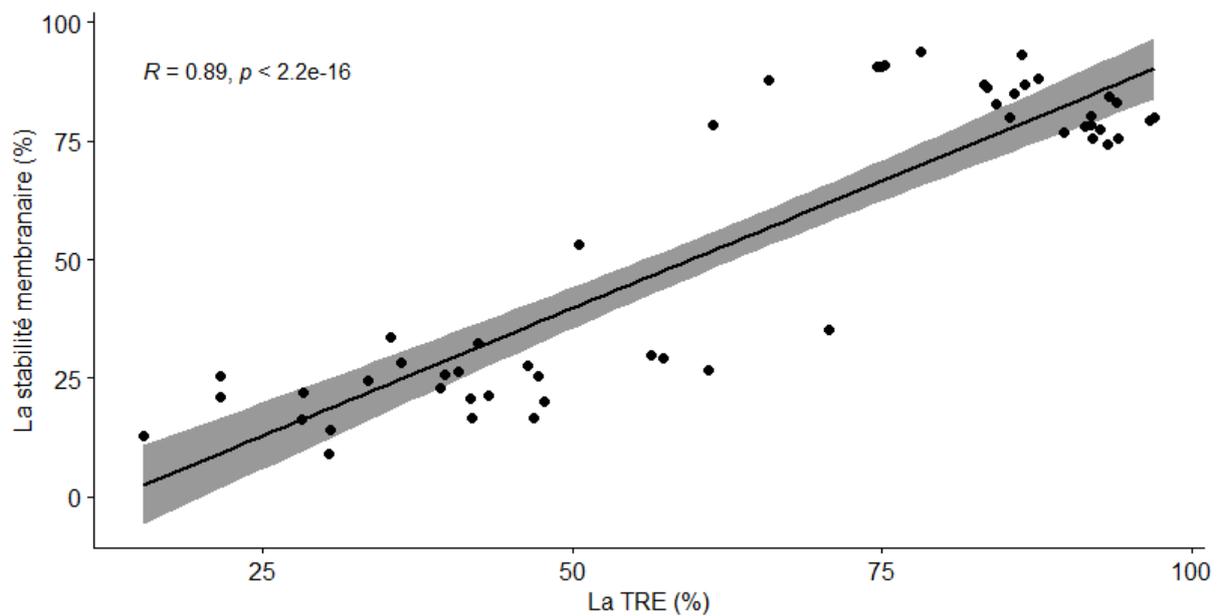
FE5725:NS:A2 FE5729:NS:A1 FE5716:NS:A1	88,32 88,14 87,02	abcde
FE5725:NS:A1 Lud:NS:A1	85,97 85,71	abcdef
Edk:NS:A2	84,79	abcdefg
Cen:NS:A1	83,51	abcdefgh
Cen:NS:A2 Edk:NS:A1	83,39 82,99	abcdefgh
Lud:NS:A2	82,14	abcdefghi
FE5718:NS:A1	81,88	abcdefghij
Bfd:NS:A2 Anc:NS:A2	81,69 80,43	abcdefghij
Anc:NS:A1	77,49	abcdefghijk
Rdj:NS:A2 Med:NS:A2 Bfd:NS:A1	77,32 76,71 76,14	abcdefghijk
Rdj:NS:A1	72,96	abcdefghijkl
Lut:NS:A1 Med:NS:A1	71,89 70,57	abcdefghijkl
FE5716:S:A1	61,67	abcdefghijklm
Cen:S:A1 Bfd:S:A1 FE5718:S:A1 FE5725:S:A1 Cen:S:A2	59,88 59,50 58,89 57,71 52,12	abcdefghijklm
Edk:S:A1 FE5729:S:A1 Anc:S:A1 FE5725:S:A2	50,73 49,89 49,78 49,58	bcdefghijklm
Edk:S:A2	48,14	cdefghijklm
Anc:S:A2	46,26	defghijklm
FE5721:S:A2 Bfd:S:A2	44,97 44,81	efghijklm
FE5721:S:A1	42,41	fghijklm
FE5718:S:A2	41,07	ghijklm
Rdj:S:A1	40,23	hijklm
FE5716:S:A2 Med:S:A1	38,78 38,57	ijklm
Rdj:S:A2	38,06	jklm
Lut:S:A1 Med:S:A2	34,56 34,46	klm
Lut:S:A2 FE5729:S:A2	31,79 31,16	lm
Lud:S:A2 Lud:S:A1	26,04 24,32	m

41. Annexe : corrélation entre stabilité membranaire et teneur relative en eau en 1^{ère} (A) et 2^{ème} années d'étude (B)

(A)



(B)



42. Annexe : Analyse de la variance de la chlorophylle (a) en 1^{ème} année d'expérimentation durant le deuxième cycle.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	Pr (>F)
Génotypes	15	22,736	1,5157	4,049	4,08e-05 ***
RH	1	0,325	0,3253	0,869	0,355
Génotypes: RH	15	2,742	0,1828	0,488	0,938
Résiduelles	64	23,956	0,3743		

Lsd (5%) = 2,07

Génotypes : RH	Moyennes	Groupes homogènes
Rdj: NS	2,64	a
Bfd: S	2,56	
FE5725:NS	2,53	
Rdj: S	2,17	
Bfd: NS	2,16	
Lud: NS	2,08	
FE5725:S	2,02	
Med: NS	1,98	
FE5716:NS	1,94	
Lud:S	1,93	
FE5716:S	1,76	
FE5722:NS	1,74	
FE5729:NS	1,73	
FE5729:S	1,69	
FE5722:S	1,63	
bnck:NS	1,63	
Lut:NS	1,58	
bnck:S	1,57	
FE5715:S	1,48	
FE5721:NS	1,29	
Edk:S	1,20	
Med:S	1,16	
FE5715:NS	1,14	
FE5718:S	1,12	
Lut:S	1,11	
FE5718:NS	1,10	
FE5721:S	0,99	
Anc:S	0,98	
Anc:NS	0,95	
Cen:NS	0,93	
Cen:S	0,92	
Edk:NS	0,71	

43. Annexe : Analyse de la variance de la chlorophylle (a) en 2^{eme} année d'expérimentation.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	Pr (>F)
Génotypes	12	155,3	12,94	1,649	0,0895
RH	1	15,3	15,32	1,952	0,1653
Cycles	1	35,6	35,60	4,536	0,0355 *
Génotypes: RH	12	50,7	4,22	0,538	0,8854
Génotypes: cycles	12	131,3	10,94	1,394	0,1804
RH: cycles	1	0,0	0,03	0,004	0,9477
Génotypes: RH: cycles	12	99,3	8,28	1,055	0,4058
Résiduelles	104	816,2	7,85		

Lsd (5%) =9, 85

Génotypes : RH : cycles	Moyennes	Groupes homogènes
Edk:S:C1	9,69	a
Lud:NS:C2	7,69	
FE5721:S:C2	7,67	
Lut:S:C2	6,85	
FE5729:S:C2	5,30	
Lud:S:C2	5,06	
Med:S:C2	5,03	
FE5729:NS:C2	4,52	
FE5718:S:C2	4,22	
Cen:S:C2	4,20	
FE5721:NS:C2	4,04	
FE5721:S:C1	3,91	
Bfd:NS:C2	3,66	
Lut:NS:C2	3,66	
Edk:NS:C2	3,63	
Med:S:C1	3,59	
Med:NS:C1	3,44	
Anc:NS:C2	3,41	
Med:NS:C2	3,34	
FE5729:S:C1	3,31	
Bfd:NS:C1	3,30	
Anc:S:C2	3,30	
Bfd:S:C1	3,29	
FE5725:NS:C1	3,23	
Bfd:S:C2	3,20	
FE5718:S:C1	3,18	
FE5725:S:C2	2,99	
Rdj:NS:C2	2,99	
Lud:S:C1	2,88	
Cen:NS:C1	2,75	
Edk:NS:C1	2,71	
Cen:NS:C2	2,62	

FE5721:NS:C1	2,60
Anc:NS:C1	2,58
Lud:NS:C1	2,53
FE5725:S:C1	2,39
FE5729:NS:C1	2,35
Rdj:S:C2	2,26
FE5718:NS:C2	2,17
Rdj:NS:C1	1,97
FE5716:NS:C2	1,92
Anc:S:C1	1,84
Lut:NS:C1	1,82
Lut:S:C1	1,66
FE5718:NS:C1	1,58
Edk:S:C2	1,55
Rdj:S:C1	1,55
Cen:S:C1	1,55
FE5716:S:C1	1,20
FE5725:NS:C2	0,69
FE5716:NS:C1	0,66
FE5716:S:C2	0,45

44. Annexe : Analyse de la variance de la chlorophylle (b) en 1^{eme} année d'expérimentation durant le deuxième cycle.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	Pr (>F)
Génotypes	15	1092,6	72,8	2,822	0,00203 **
RH	1	1060,6	1060,6	41,095	1,99e-08 ***
Génotypes: RH	15	320,4	21,4	0,828	0,64416
Résiduelles	64	1651,7	25,8		

Lsd (5%) = 17, 21

Génotypes : RH	Moyennes	Groupes homogènes
Rdj:S	25,72	a
bnck:S	18,98	ab
Lud:S	18,96	
Edk:S	16,94	
FE5725:S	15,63	
FE5722:S	15,05	
Lut:NS	14,13	
Lud:NS	13,14	
Rdj:NS	12,82	
Lut:S	12,67	
Bfd:S	12,51	
Anc:S	12,04	
FE5716:S	11,92	ab
FE5721:S	11,53	
FE5729:S	11,33	

FE5718:S	11,18	b
Cen:S	10,66	
Med:S	9,26	
FE5715:S	8,37	
FE5716:NS	8,34	
Med:NS	7,59	
FE5725:NS	7,50	
FE5722:NS	7,27	
Cen:NS	7,04	
bnck:NS	6,84	
Bfd:NS	5,68	
Anc:NS	5,45	
FE5729:NS	4,92	
Edk:NS	4,89	
FE5721:NS	4,47	
FE5718:NS	3,69	
FE5715:NS	2,64	

45. Annexe : Analyse de la variance de la chlorophylle (b) en 2^{eme} année d'expérimentation.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	Pr (>F)
Génotypes	12	625	52	1,057	0,40384
RH	1	540	540	10,951	0,00129 **
cycles	1	32675	32675	663,080	< 2e-16 ***
Génotypes: RH	12	1464	122	2,475	0,00690 **
Génotypes: cycles	12	1120	93	1,895	0,04319 *
RH: cycles	1	253	253	5,137	0,02550 *
Génotypes: RH: cycles	12	1132	94	1,915	0,04068 *
Résiduelles	104	5125	49		

Lsd (5%) =24, 68

Génotypes: RH: cycles	Moyennes	Groupes homogènes
FE5716:S:C2	52,91	a
Rdj:S:C2	46,85	ab
FE5729:S:C2	45,83	
Med:S:C2	44,90	
FE5721:S:C2	44,66	
FE5718:S:C2	44,61	
FE5725:S:C2	43,33	
Bfd:NS:C2	41,76	
Cen:S:C2	41,48	
Lud:S:C2	40,94	
Lut:S:C2	40,67	
Lud:NS:C2	40,32	
FE5729:NS:C2	38,24	abc
Rdj:NS:C2	37,51	

FE5718:NS:C2	35,04	abcd
Anc:NS:C2	34,85	
Lut:NS:C2	34,50	
Cen:NS:C2	33,77	abcde
FE5721:NS:C2	32,49	abcdef
Edk:S:C2	31,04	abcdefg
Med:NS:C2	30,92	
FE5725:NS:C2	30,89	abcdefgh
FE5716:NS:C2	29,07	abcdefghi
Edk:NS:C2	28,06	bcdefghi
Bfd:S:C2	26,29	
Anc:S:C2	25,38	
Edk:S:C1	22,98	bcdefghi
Lud:NS:C1	15,47	cdefghi
FE5721:S:C1	14,62	
Lut:NS:C1	14,54	
FE5716:S:C1	11,97	defghi
Med:S:C1	9,54	efghi
Lud:S:C1	8,71	fghi
Bfd:S:C1	8,32	
Bfd:NS:C1	8,15	
Med:NS:C1	8,03	
FE5725:NS:C1	7,99	
FE5718:S:C1	7,97	
FE5716:NS:C1	7,70	ghi
FE5729:S:C1	7,53	
Cen:NS:C1	7,02	
FE5721:NS:C1	6,90	
Anc:NS:C1	6,65	
Anc:S:C1	6,40	
FE5729:NS:C1	6,22	hi
FE5725:S:C1	6,11	i
Lut:S:C1	5,92	
Edk:NS:C1	5,67	
Rdj:NS:C1	5,01	
FE5718:NS:C1	4,90	
Cen:S:C1	4,73	
Rdj:S:C1	4,70	

46. Annexe : Analyse de la variance de la proline en 1^{ère} année d'expérimentation.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	Pr (>F)
Génotypes	15	22335	1489	3,268	0,00013 ***
RH	1	55083	55083	120,906	< 2e-16 ***
Cycles	1	543	543	1,191	0,27719
Génotypes: RH	15	16305	1087	2,386	0,00453 **

Génotypes: cycles	15	13285	886	1,944	0,02444 *
RH: cycles	1	20022	20022	43,947	8,52e-10 ***
Génotypes: RH: cycles	15	11486	766	1,681	0,06254,
Résiduelles	128	58314	456		

Lsd (5%) = 76,27

Génotypes : RH : cycles	Moyennes	Groupes homogène
Anc:S:C1	108,50	a
bnck:S:C1	104,72	ab
Edk:S:C1	97,24	abc
Bfd:S:C1	89,60	abcd
Med:S:C1	88,12	
Anc:S:C2	83,98	abcde
FE5715:S:C1	79,89	
FE5718:S:C1	71,90	
Rdj:NS:C2	70,24	
FE5715:S:C2	70,03	
Lud:S:C1	70,01	
Lud:S:C2	68,75	
Lut:S:C1	68,26	
Cen:S:C1	65,44	
Rdj:S:C2	64,69	
FE5729:S:C1	62,36	
Rdj:S:C1	58,26	
FE5721:S:C2	57,14	
FE5729:NS:C2	47,96	
FE5715:NS:C1	47,69	
Bfd:S:C2	45,25	
Edk:S:C2	44,80	
FE5716:S:C2	42,53	
FE5721:S:C1	41,87	
FE5725:S:C1	41,23	
Cen:NS:C2	39,43	
FE5716:S:C1	37,96	
Med:S:C2	35,39	
FE5729:S:C2	34,41	
FE5718:NS:C2	34,15	
Lud:NS:C2	33,71	abcdef
FE5718:S:C2	32,83	
FE5722:NS:C2	30,94	
bnck:NS:C2	30,22	
Lut:NS:C2	29,57	bcdef
Cen:S:C2	29,22	
Edk:NS:C2	29,08	
Med:NS:C2	28,53	

Lut:S:C2	27,90	cdef
FE5722:S:C2	26,41	
Anc:NS:C2	25,71	
FE5716:NS:C2	25,19	
bnck:S:C2	25,06	
FE5725:NS:C2	23,93	
Bfd:NS:C2	23,32	
FE5725:S:C2	23,30	
FE5729:NS:C1	22,03	
FE5718:NS:C1	21,78	
bnck:NS:C1	21,31	
Lud:NS:C1	20,09	def
FE5715:NS:C2	19,32	
Med:NS:C1	16,09	
Lut:NS:C1	10,65	ef
Rdj:NS:C1	10,62	
Edk:NS:C1	9,31	
Anc:NS:C1	8,95	
FE5725:NS:C1	7,65	f
FE5722:S:C1	6,89	
Cen:NS:C1	6,54	
FE5721:NS:C1	6,48	
FE5716:NS:C1	6,03	
FE5721:NS:C2	5,15	
FE5722:NS:C1	4,30	
Bfd:NS:C1	3,96	

47. Annexe : Analyse de la variance de la proline en 2^{ème} année d'expérimentation.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	Pr (>F)
Génotypes	12	17421	1452	1,069	0,394
RH	1	32231	32231	23,732	3,98e-06 ***
Cycles	1	422862	422862	311,363	< 2e-16 ***
Génotypes: RH	12	15350	1279	0,942	0,509
Génotypes: cycles	12	9541	795	0,585	0,850
RH: cycles	1	2400	2400	1,768	0,187
Génotypes: RH: cycles	12	10603	884	0,651	0,794
Résiduelles	104	141242	1358		

Lsd (5%) = 129,57

Génotypes : RH : Cycles	Moyennes	Groupes homogènes
FE5729:S:C2	214,79	a
Rdj:NS:C2	208,11	ab
Med:S:C2	204,03	abc

Edk:S:C2 Anc:S:C2	199,11 195,05	abcd
FE5718:S:C2	193,04	abcde
Lud:NS:C2	189,02	abcdef
Lud:S:C2	187,21	abcdefg
Cen:S:C2 Bfd:NS:C2 FE5716:S:C2	183,19 182,91 181,26	abcdefgh
FE5729:NS:C2 FE5725:S:C2 Rdj:S:C2	175,94 175,31 174,76	abcdefghi
FE5721:S:C2 FE5721:NS:C2	172,67 172,04	abcdefghij
FE5716:NS:C2	170,97	abcdefghijk
Edk:NS:C2 Med:NS:C2 Bfd:S:C2 Anc:NS:C2 Cen:NS:C2 Lut:NS:C2 Lut:S:C2 FE5718:NS:C2 FE5725:NS:C2 Anc:S:C1 Bfd:S:C1 FE5725:S:C1 Edk:S:C1 Rdj:S:C1 Med:S:C1	157,34 154,94 151,12 149,18 147,57 144,30 140,95 128,18 120,22 117,13 109,25 101,46 93,84 93,70 90,77	abcdefghijkl
Cen:S:C1 FE5716:S:C1	84,13 82,04	bcdefghijkl
Lud:S:C1 FE5718:S:C1	77,04 76,31	cdefghijkl
FE5729:S:C1 Lud:NS:C1	71,83 69,77	defghijkl
FE5729:NS:C1	64,43	efghijkl
FE5721:S:C1 Rdj:NS:C1 Lut:S:C1	62,39 61,22 60,90	fghijkl
Med:NS:C1	58,77	ghijkl
FE5725:NS:C1	57,31	hijkl
Bfd:NS:C1 Edk:NS:C1 FE5716:NS:C1	51,21 49,24 49,00	ijkl
Lut:NS:C1	43,98	jkl
Anc:NS:C1	41,50	kl

Cen:NS:C1	35,59	1
FE5718:NS:C1	32,93	
FE5721:NS:C1	30,15	

48. Annexe : Analyse d'interaction entre 1ere et 2^{eme} années d'expérimentation pour la proline.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	Pr (>F)
Génotypes	12	24895	2075	0,807	0,643
RH	1	80665	80665	31,393	5,36e-08 ***
Années	1	504476	504476	196,331	< 2e-16 ***
Génotypes: RH	12	17014	1418	0,552	0,879
Génotypes: Années	12	5847	487	0,190	0,999
RH: Années	1	907	907	0,353	0,553
Génotypes: RH: Années	12	10631	886	0,345	0,980
Résiduelles	260	668074	2570		

Lsd (5%): 122, 73

Génotypes : RH : Cycles	Moyennes	Groupes homogènes
Anc:S:A2	156,09	a
Med:S:A2	147,40	ab
Edk:S:A2	146,47	ab
FE5729:S:A2	143,31	abc
FE5725:S:A2	138,39	abcd
FE5718:S:A2	134,67	abcde
Rdj:NS:A2	134,66	
Rdj:S:A2	134,23	
Cen:S:A2	133,66	
Lud:S:A2	132,13	
FE5716:S:A2	131,65	
Bfd:S:A2	130,18	
Lud:NS:A2	129,39	
FE5729:NS:A2	120,18	abcdef
FE5721:S:A2	117,53	
Bfd:NS:A2	117,06	
FE5716:NS:A2	109,99	
Med:NS:A2	106,85	
Edk:NS:A2	103,29	
FE5721:NS:A2	101,09	
Lut:S:A21	100,92	
Anc:S:A1	96,24	
Anc:NS:A2	95,34	
Lut:NS:A2	94,14	abcdef
Cen:NS:A2	91,58	
FE5725:NS:A2	88,77	

FE5718:NS:A2	80,55	
Edk:S:A1	71,02	
Lud:S:A1	69,38	
Bfd:S:A1	67,43	
Med:S:A1	61,75	
Rdj:S:A1	61,47	
FE5718:S:A1	52,36	
FE5721:S:A1	49,50	
FE5729:S:A1	48,39	
Lut:S:A1	48,08	
Cen:S:A1	47,33	
Rdj:NS:A1	40,43	
FE5716:S:A1	40,25	
FE5729:NS:A1	35,00	
FE5725:S:A1	32,26	bcdef
FE5718:NS:A1	27,97	
Lud:NS:A1	26,90	
Cen:NS:A1	22,99	cdef
Med:NS:A1	22,31	
Lut:NS:A1	20,11	def
Edk:NS:A1	19,19	
Anc:NS:A1	17,33	
FE5725:NS:A1	15,79	def
FE5716:NS:A1	15,61	ef
Bfd:NS:A1	13,64	
FE5721:NS:A1	5,82	f

49. Annexe : Analyse de la variance des sucres solubles totaux en 1^{ère} année d'expérimentation.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	Pr (>F)
Génotypes	15	1748	116,5	1,259	0,23808
RH	1	47	46,9	0,507	0,47781
cycles	1	761	761,2	8,221	0,00484 **
Génotypes: RH	15	1259	83,9	0,906	0,55882
Génotypes: cycles	15	1315	87,7	0,947	0,51494
RH: cycles	1	108	107,6	1,162	0,28308
Génotypes :RH: cycles	15	1232	82,2	0,887	0,57969
Résiduelles	128	11851	92,6		

Génotypes : RH : cycles	Moyennes	Groupes homogènes
FE5721:S:C1	36,01	a
Anc:S:C1	30,95	
Bfd:S:C1	30,75	
Edk:S:C1	28,54	
FE5729:NS:C2	28,14	
Med:NS:C1	25,34	
Anc:S:C2	23,88	
Anc:NS:C2	23,46	
FE5725:S:C1	23,46	
bnck:S:C2	23,43	
Rdj:NS:C2	22,72	
Cen:NS:C1	22,63	
FE5729:S:C1	22,02	
Anc:NS:C1	21,99	
FE5721:NS:C1	21,97	
FE5718:NS:C1	20,41	
Bfd:S:C2	20,40	
bnck:NS:C2	20,40	
bnck:S:C1	20,10	
Bfd:NS:C1	20,00	
FE5722:NS:C1	19,70	
Lut:S:C2	19,42	
Rdj:S:C1	19,17	
FE5725:NS:C1	18,93	
FE5715:S:C2	18,77	
FE5718:S:C1	18,51	
Lut:NS:C1	17,88	
bnck:NS:C1	17,77	
Lut:NS:C2	17,54	
Med:S:C1	17,31	
Cen:S:C1	16,76	
FE5715:S:C1	16,28	
FE5716:S:C1	15,90	
FE5722:NS:C2	15,77	
FE5725:S:C2	15,69	
Lud:NS:C1	15,45	
FE5718:NS:C2	15,11	
Edk:NS:C1	14,97	
FE5715:NS:C1	14,91	

Lud:NS:C2	14,21
Edk:S:C2	13,97
FE5729:NS:C1	13,96
FE5722:S:C2	13,83
Med:NS:C2	13,72
Cen:NS:C2	13,67
Rdj:NS:C1	13,64
Lud:S:C2	13,61
FE5716:S:C2	12,67
Lud:S:C1	12,64
Edk:NS:C2	12,61
Rdj:S:C2	12,60
FE5721:S:C2	12,58
Med:S:C2	12,42
Lut:S:C1	12,32
Bfd:NS:C2	12,23
FE5721:NS:C2	12,11
FE5725:NS:C2	11,41
Cen:S:C2	11,21
FE5716:NS:C1	11,18
FE5718:S:C2	10,91
FE5716:NS:C2	10,81
FE5722:S:C1	9,77
FE5729:S:C2	7,46
FE5715:NS:C2	7,06

50. Annexe : Analyse de la variance des sucres solubles totaux en 2^{eme} année d'expérimentation.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	Pr (>F)
Génotypes	12	6932	577,7	2,108	0,02235 *
RH	1	1451	1451,3	5,296	0,02337 *
Cycles	1	2495	2495,2	9,105	0,00321 **
Génotypes: RH	12	2739	228,3	0,833	0,61648
Génotypes: cycles	12	7350	612,5	2,235	0,01494 *
RH: cycles	1	144	144,4	0,527	0,46947
Génotypes: RH: cycles	12	695	57,9	0,211	0,99766
Résiduelles	104	28501	274,1		

Lsd (5%) = 58,21

Génotypes : RH : cycles	Moyennes	Groupes homogènes
Bfd:S:C1	77,89	a
Bfd:NS:C1	46,64	ab
Edk:S:C1	46,29	
Edk:NS:C1	45,60	
Lut:S:C2	43,50	
Bfd:S:C2	43,22	

FE5729:S:C2	41,64	ab
FE5716:NS:C2	41,05	
Edk:S:C2	40,85	
Lut:S:C1	40,56	
Cen:S:C2	40,30	
FE5729:NS:C2	40,26	
Med:S:C2	39,35	
Cen:NS:C2	38,80	
FE5721:NS:C2	38,36	
FE5721:S:C2	38,12	
FE5718:NS:C2	38,08	
Med:S:C1	37,73	
Anc:S:C2	34,69	
FE5725:S:C2	34,37	
Rdj:S:C2	33,11	
Med:NS:C2	32,67	
FE5716:S:C2	31,05	
Edk:NS:C2	30,94	
Lud:S:C2	30,46	
Lut:NS:C2	29,83	
FE5725:NS:C2	28,76	
Anc:NS:C2	27,54	
Rdj:S:C1	27,07	
Lud:NS:C2	26,99	
Bfd:NS:C2	26,43	
FE5718:S:C2	25,56	
Lud:S:C1	25,34	
FE5718:S:C1	25,14	
Anc:NS:C1	25,08	
FE5725:S:C1	24,90	
Anc:S:C1	23,64	
FE5716:NS:C1	23,48	
Rdj:NS:C2	22,23	
Lud:NS:C1	22,01	
FE5725:NS:C1	19,85	
FE5729:NS:C1	18,49	
FE5729:S:C1	18,42	
Med:NS:C1	18,41	
FE5716:S:C1	18,36	
Lut:NS:C1	18,35	
FE5718:NS:C1	17,86	
Cen:S:C1	17,71	
FE5721:NS:C1	16,77	
FE5721:S:C1	14,20	
Rdj:NS:C1	13,59	
Cen:NS:C1	6,83	
		b

51. Annexe : Analyse d'interaction entre 1^{ere} et 2^{eme} années d'expérimentation pour les sucres solubles totaux.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	Pr (>F)
Génotypes	12	4964	414	2,054	0,0204 *
RH	1	973	973	4,833	0,0288 *
Années	1	12991	12991	64,508	3,35e-14 ***
Génotypes: RH	12	2005	167	0,830	0,6198
Génotypes: Années	12	3396	283	1,405	0,1633
RH: Années	1	514	514	2,554	0,1112
Génotypes: RH: Années	12	1748	146	0,723	0,7282
Résiduelles	260	52360	201		

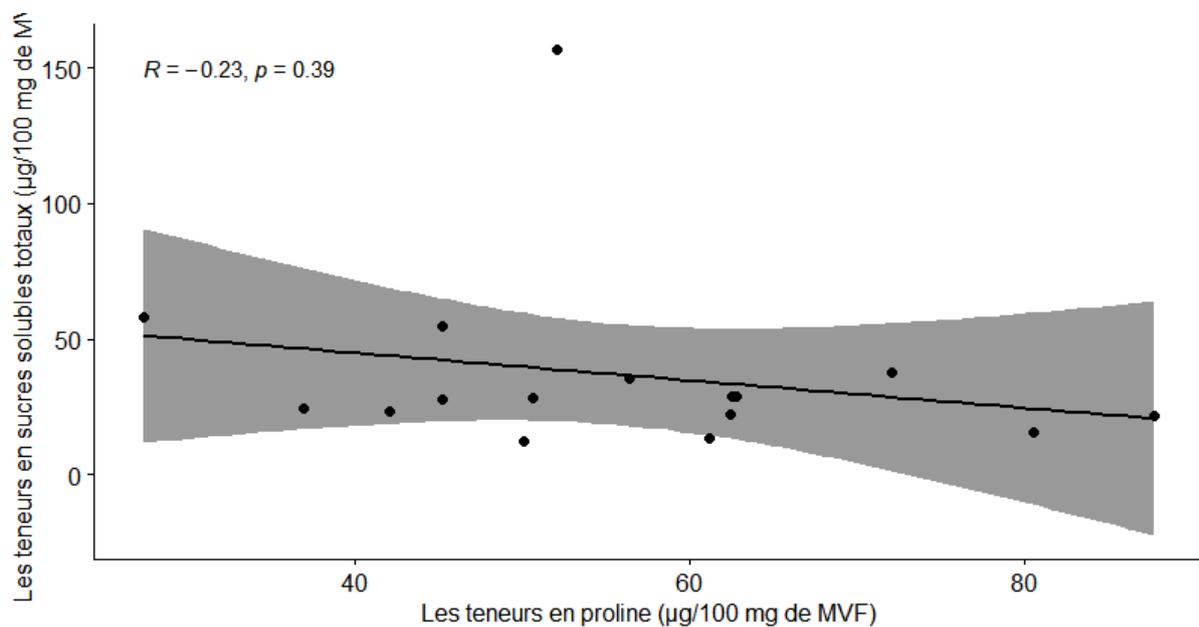
Lsd (5%) = 34, 36

Génotypes : RH : Années	Moyennes	Groupes homogènes
Bfd:S:A2	60,55	a
Edk:S:A2	43,57	
Lut:S:A2	42,03	
Med:S:A2	38,54	
Edk:NS:A2	38,27	
Bfd:NS:A2	36,54	
FE5716:NS:A2	32,26	
Rdj:S:A2	30,09	
FE5729:S:A2	30,03	
FE5725:S:A2	29,64	
FE5729:NS:A2	29,37	
Anc:S:A2	29,16	
Cen:S:A2	29,01	
FE5718:NS:A2	27,97	
Lud:S:A2	27,90	
FE5721:NS:A2	27,56	ab
Anc:S:A1	27,41	
Anc:NS:A2	26,31	
FE5721:S:A2	26,16	
Bfd:S:A1	25,58	
Med:NS:A2	25,54	
FE5718:S:A2	25,35	
FE5716:S:A2	24,71	
Lud:NS:A2	24,50	
FE5725:NS:A2	24,31	
FE5721:S:A1	24,30	
Lut:NS:A2	24,09	
Cen:NS:A2	22,81	
Anc:NS:A1	22,73	
Edk:S:A1	21,26	

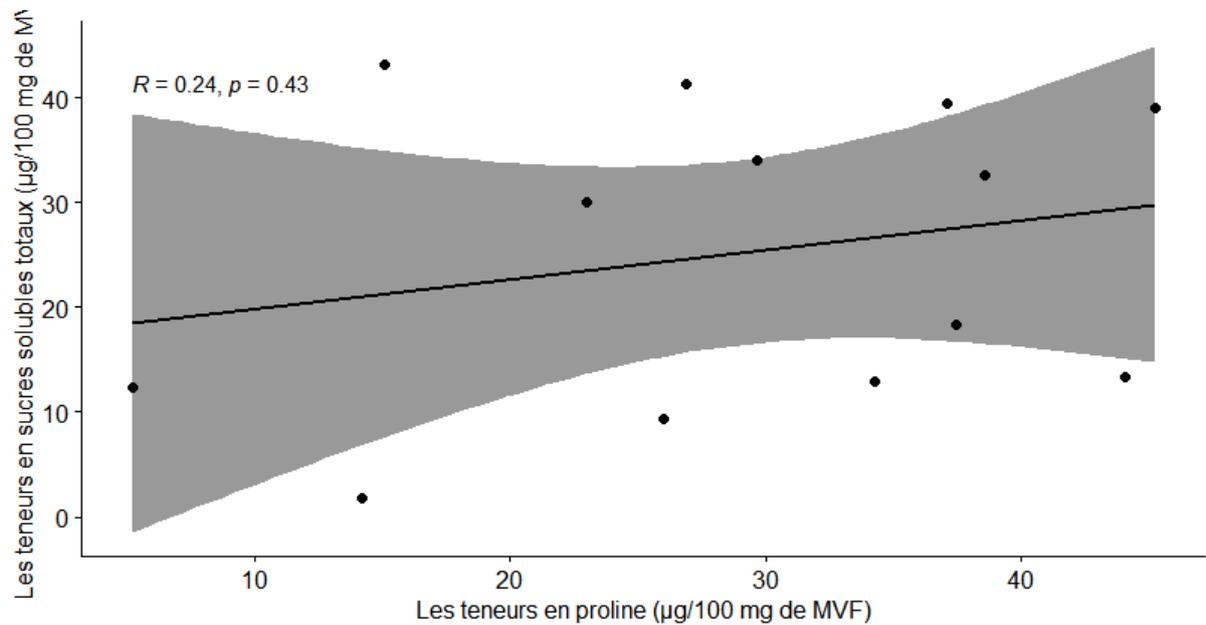
FE5729:NS:A1	21,05
FE5725:S:A1	19,58
Med:NS:A1	19,53
Rdj:NS:A1	18,18
Cen:NS:A1	18,15
Rdj:NS:A2	17,91
FE5718:NS:A1	17,76
Lut:NS:A1	17,71
FE5721:NS:A1	17,04
Bfd:NS:A1	16,11
Rdj:S:A1	15,88
Lut:S:A1	15,87
FE5725:NS:A1	15,17
Med:S:A1	14,87
Lud:NS:A1	14,83
FE5729:S:A1	14,74
FE5718:S:A1	14,71
FE5716:S:A1	14,29
Cen:S:A1	13,98
Edk:NS:A1	13,79
Lud:S:A1	13,12
FE5716:NS:A1	10,99

52. Annexe : Test de corrélation "Pearson" entre les teneurs en proline et celles de SST en 1^{ère} (A) et 2^{ème} années d'étude (B)

(A)



(B)



53. Annexe : Distances euclidiennes entre les différents génotypes conduits sous serre.

Génotypes	Rdj	Anc	Edk	Bfd	FE5721	FE5718	FE5716	FE5725	FE5729	Med	Lud	Cen
Anc	3,54											
Edk	4,09	2,44										
Bfd	4,69	3,03	1,17									
FE5721	3,79	4,34	2,88	3,03								
FE5718	3,87	3,88	2,28	2,46	1,66							
FE5716	3,81	4,23	3,49	3,84	2,96	2,33						
FE5725	4,43	3,58	2,59	2,74	2,82	1,76	1,78					
FE5729	3,57	4,48	3,32	3,28	2,97	3,06	3,28	3,82				
Med	2,50	2,80	2,83	2,99	2,68	3,08	3,43	3,43	2,63			
Lud	1,95	4,91	4,71	4,98	3,57	3,98	4,15	4,95	2,86	2,84		
Cen	3,51	3,76	3,58	3,99	3,02	2,77	1,26	1,98	3,79	3,02	4,19	
Lut	5,05	5,42	3,89	3,31	2,56	3,19	4,07	3,98	2,47	3,27	4,13	4,37

54. Annexe : Tableau de corrélations entre les variables étudiées et les génotypes.

Génotypes/ variables	proline	sucre	SM	TRE	Ch(a+b)	SF
Rdj	1,61667392	-1,2838815	-1,0271052	0,0000000	0,5135526	-1,5406578
Anc	1,33266363	1,0271052	-0,5135526	1,5406578	-1,5406578	-1,0271052
Edk	0,48063279	1,2838815	0,5135526	1,2838815	-0,2567763	0,5135526
Bfd	-0,08738778	1,5406578	0,0000000	1,0271052	-0,5135526	1,2838815
FE5721	-1,22342891	0,0000000	0,2567763	0,2567763	1,2838815	0,0000000
FE5718	-0,65540834	-0,5135526	0,7703289	0,7703289	0,2567763	0,7703289
FE5716	-0,37139806	-1,0271052	1,5406578	-0,7703289	-0,7703289	-0,2567763
FE5725	-0,93941863	-0,2567763	1,2838815	0,5135526	-1,2838815	0,2567763
FE5729	0,76464307	0,2567763	-0,2567763	-1,5406578	0,7703289	1,0271052
Med	0,19662250	0,5135526	-1,2838815	-0,2567763	0,0000000	-0,7703289
Lud	1,04865335	-1,5406578	-1,5406578	-1,0271052	1,5406578	-0,5135526
Cen	-0,65540834	-0,7703289	1,0271052	-0,5135526	-1,0271052	-1,2838815
Lut	-1,50743919	0,7703289	-0,7703289	-1,2838815	1,0271052	1,5406578

55. Annexe : Protocole d'extraction d'ADN avec le kit Qiagen DNeasy.

L'extraction d'ADN a été faite à partir d'environ 25 à 30 mg de tissus secs obtenus après lyophilisation pendant 3 jours en suivant les étapes suivantes :

- Broyage des échantillons à l'aide d'un broyeur à bille (Retsch Mixer Mill MM 400) réglé à une fréquence d'oscillation « 30 Hz » pour une durée d'une minute et 30 secondes jusqu'à l'obtention d'une poudre végétale fine ;
- Centrifugation des tubes dans une centrifugeuse réglée à 2000 tr/min pendant quelques minutes afin de faire descendre la poudre végétale collée sur la paroi des tubes ;
- l'ajout (à l'aide d'une multicanale), de 400 µl d'une solution contenant le tampon de lyse (AP1) qui est préalablement chauffé et de l'ARNase ;
- Secouer les tubes pendant 2-3 min avec la main afin de bien mélanger le tampon avec les tissus broyés ;
- Incubation des tubes dans un bain marie à 65°C pendant 10-15 min ;
- Centrifugation des tubes jusqu'à 3000 tr/min ;
- l'ajout de 130µl du tampon de liaison P3 aux tubes ;
- Secouer vigoureusement les tubes avec la main pendant 15 secs ;

- Centrifugation des tubes jusqu'à 2000 tr/min ;
- Incubation des tubes au congélateur (-20°C) pendant 10 min ou bien au réfrigérateur pendant 30 min ;
- Centrifugation des tubes à 6000 tr/min pendant 5 min ;
- une autre centrifugation des tubes à l'aide d'une centrifugeuse à plaque à 6000 tr/min pendant 3 min ;
- Transférer soigneusement 400 µl du surnageant obtenu aux nouveaux tubes tout en évitant de toucher la pelote au fond des tubes ;
- L'ajout de 1,5 de volume (entre 560 ou 570 µl) de tampon de liaison (AP3) pour chaque tube ;
- Secouer vigoureusement les tubes avec la main pendant 15 secs puis les centrifuger jusqu'à 3000 tr/min ;
- Transférer soigneusement 1 ml ou moins de la solution dans des nouveaux tubes et centrifuger à 6000 tr/min pendant 4 min ;
- L'ajout de 800 µl du tampon de lavage aux tubes ;
- Centrifugation des tubes à 6000 tr/min pendant 15 min
- L'ajout de 100 µl du tampon d'éluion aux tubes ;
- Incubation des tubes à la température ambiante pendant 5 min ;
- Une dernière centrifugation des tubes à 6000 tr/min pendant 2 min et l'ADN soit stocker à -20°C.

56. Annexe : Quantification d'ADN à l'aide du réactif fluorescent « Picogreen ».

Le réactif Picogreen est un colorant cyanine asymétrique exclusif qui présente une augmentation de la fluorescence 1000 fois plus lorsqu'il est lié à l'ADN. Le réactif est 10000 fois plus sensible que les méthodes d'absorbance UV d'où l'intérêt d'une manipulation soignée lors de la préparation des échantillons.

➤ Préparation des échantillons pour la quantification

Avant de procéder à la préparation de l'ADN, une gamme d'étalon à différentes concentrations connue (0-100 ng/µl) est préparée afin d'être utilisée pour la détermination de la concentration de l'ADN.

La préparation des échantillons se fait dans une plaque opaque (de couleur noire) de 96 puits où chaque échantillon doit être impérativement répété afin d'avoir un résultat fiable.

La préparation commence par l'ajout de 5 ml de TE (1X) à chaque puits suivie de 1 μ l d'ADN de stock et à la fin 25 μ l du réactif Picogreen sont rajoutés.

Vue que le réactif Picogreen est très sensible à la lumière la plaque préparée doit être conservée à l'obscurité avant de procéder à la quantification à l'aide d'un lecteur à détection multiple (GloMax®-Multi Detection System).

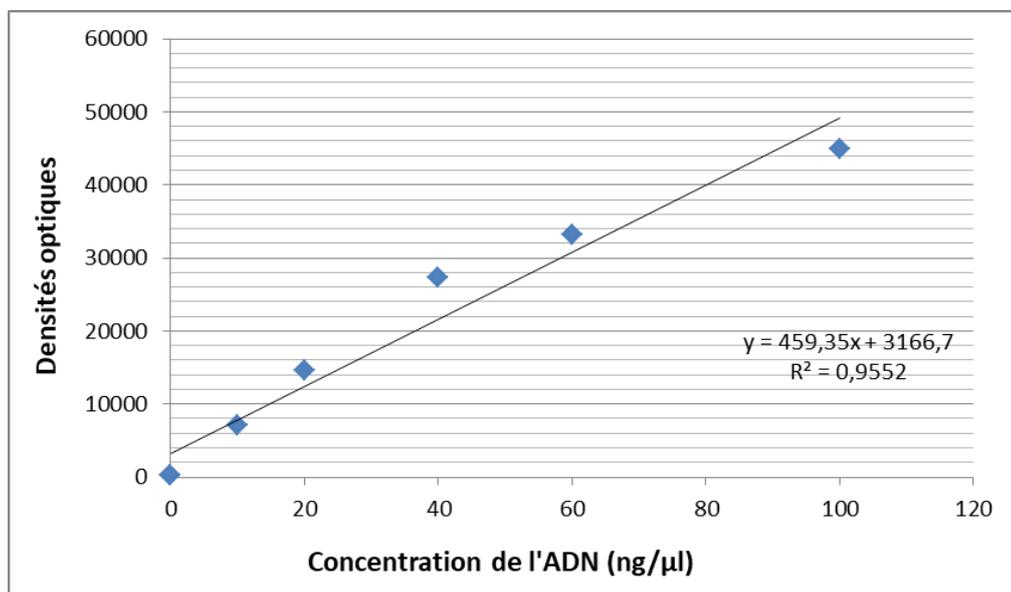


Figure : Gamme étalon des différentes concentrations de l'ADN

57. Annexe : Résultats d'analyse de la cytométrie en flux pour les géotypes de dactyle et la fétuque élevée.

Numéro des accessions/cultivars	Noms des accession/cultivars	CV PE-A moyen (%)	Niveau de ploïdie
438	Ruines_de_djemila	6,79	2n= 4x
439	Anouche	5,42	
447	El_adaiek	5,55	
452	Bone_faid_bouteldja	5,81	
4953	FE5718	2,46	2n= 6x
4968	FE5725	3,06	
5019	FE5729	2,85	
0010	Medly	6,70	2n= 4x
0011	Ludac	3,68	
7010	Centurion	3,51	2n=6x
7011	Lutine	2,27	2n=6x
La référence	Conrad	0,08	2n= 2x

58. Annexe : Résultats d'analyse de la différenciation génétique totale (Fst) pour les géotypes de dactyle (A) et de la fétuque élevée (B).

(A)

Géotypes	Med	Lud	Rdj	Anc	Edk	Bfd
Med	0	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010
Lud	0,150	0	0,010	0,010	0,010	0,010
Rdj	0,086	0,155	0	0,010	0,010	0,010
Anc	0,181	0,269	0,075	0	0,010	0,010
Edk	0,118	0,206	0,041	0,068	0	0
Bfd	0,133	0,208	0,067	0,111	0,051	0

(B)

Géotypes	FE5718	FE5725	FE5729	Cen	Lut
FE5718	0	0,010	0,010	0,010	0,020
FE5725	0,147	0	0,010	0,010	0,010
FE5729	0,152	0,080	0	0,010	0,010
Cen	0,199	0,118	0,054	0	0,010
Lut	0,160	0,177	0,162	0,189	0

Molecular characterization of Algerian populations of cocksfoot and tall fescue: Ploidy level determination and genetic diversity analysis

Hadjer Benfriha¹  | Mohamed Mefti¹ | Matthew Robbins²  | Kim Thorsted² | Shaun Bushman²

¹LRGB-Ecole Nationale Supérieure Agronomique, El Harrach, Algeria

²USDA-ARS, Forage and Range Research Lab, Logan, UT, USA

Correspondence

Mohamed Mefti, LRGB-Ecole Nationale Supérieure Agronomique, Avenue Pasteur, Hassan Badi, El Harrach, 16200 Algiers, Algeria.
Emails: mohammed.mefti@edu.ensa.dz

Funding information

Ministry of the higher education and scientific research from Algeria; Algerian American Foundation

Abstract

Algeria is a country rich in phylogenetic resources, especially those of pastoral and forage interest. Unfortunately, few studies have been conducted to characterize Algerian local ecotypes. Recently, advances in next-generation sequencing technologies have allowed for robust genotyping by sequencing (GBS) for single nucleotide polymorphism (SNP) discovery, making the characterization of plant relationships with complex and unsequenced genomes more feasible. In the present study, we investigate the genetic diversity of cocksfoot and tall fescue ecotypes from different regions in Algeria, using the SNP variation supplied by a GBS analysis. We compared ecotypes to two common cultivars of both species. A total of 787 SNP markers for cocksfoot and 743 for tall fescue were obtained, and the diversity analysis revealed that 88% and 86% of overall variation in cocksfoot and tall fescue, respectively, were within populations rather than among them. Genetic structure analysis revealed a moderate genetic differentiation among accessions with a mean F_{st} value of 0.127 for cocksfoot and 0.140 for tall fescue, with high gene flow ($Nm_{Orchardgrass} = 1.723$, $Nm_{Tall fescue} = 1.535$) and no significant isolation-by-distance pattern. A unweighted pair group method with arithmetic mean tree (UPGMA) and principal component analysis revealed the genetic distinctness of populations from cultivars for each species. The flow cytometry analysis confirmed the tetraploid level of cocksfoot and the hexaploid level of all tall fescue entries but one. Although the cocksfoot populations were distinct from the cultivars, the Ruines de djemila population had the broadest base and showed the closest relative relationship to the two cultivars. Similarly, the FE5729 tall fescue population showed the closest relationship to the two tall fescue cultivars.

KEYWORDS

Dactylis, *Festuca*, SNP markers

1 | INTRODUCTION

Algeria, by the diversity of its environments and its land, constitutes an immense resource of plant species of pastoral and forage interest (Abdelguerfi et al., 2008). The local plant genetic resources

dominated by Fabaceae and Poaceae often constitute the base of the flora of pastures, grasslands and fallow lands (Abdelguerfi, 2004). For the most part, forage grasses in this region have a large natural distribution in various types of semi-natural grasslands, ranging from heavily exploited permanent grasslands to more sporadically

managed pastures (Boller & Greene, 2010). This natural diversity is one peculiarity of forage grasses among plant species in this region, subjecting them to natural genetic improvement (Sampoux et al., 2013). Despite the diversity of these plant genetic resources and especially their adaptations to local constraints (both biotic and abiotic), they have not been well characterized or utilized in pasture improvement efforts (Abdelguerfi, 2004).

At present, some challenges contribute to the decrease of the production of the forage in Algeria. First, there is lack of commercial seed in quantity. Second, interest in breeding has decreased, such that the development of new forage grass cultivars is relatively absent. Third, few studies have been carried out in Algeria per se to evaluate varieties of perennial grasses (Mefti et al., 2016), or to assess the genetic diversity of local ecotypes and identify and select those well adapted to North African conditions. The opportunities for forage development and improvement of pastoral production exist, and perennial grasses play a key role in landscape improvement and livestock feed. Particularly, perennials rather than annual species offer greater optimization of water availability through their more rapid regrowth at the onset of the autumn rains and are more efficient at exploitation of residual moisture in late spring (Lelièvre et al., 2008; Norton et al., 2009).

Among the perennial grasses, cocksfoot (*Dactylis glomerata* L.) and tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb = syn. *Lolium arundinaceum* (Schreb) Darbysh) are of particular importance. Cocksfoot is predominantly an out-crossing autotetraploid ($2n = 4x = 28$), is native to northern Africa, has exhibited remarkable local adaptation and ecotype differentiation, and is one of the top four perennial forage grass genera grown worldwide (Hulten, 1968; Stewart and Ellison, 2010; Tolmachev et al., 1995). Tall fescue is an out-crossing allohexaploid ($2n = 6x = 42$), is endemic to Europe and North Africa (Borrill et al., 1971), and is also one of the top four cool-season forage

grasses throughout the temperate regions of the world (Hoveland, 2005).

Genetic diversity is an important precursor in a study of any species and is used as means to characterize and select unique and important grass populations that can be introduced in breeding program. Next-generation sequencing has increased the efficiency and robustness of molecular marker characterizations of germplasm, even for non-model crops. Genome reduction techniques such as genotyping by sequencing (GBS) are becoming progressively more popular as they allow a fraction of the genome to be sequenced and compared for multiple individuals. It presents advantage of low per sample cost compared to previous analysis which is achieved by multiplexing samples from many (e.g., 48, 96, or 384) different genetic entities (hereafter "lines") simultaneously through the use of short specific "barcodes" ligated to each sample prior to sequencing (Huang et al., 2014). These techniques are an efficient way to explore genome diversity in non-model crops for which no reference genome is available (Berthouly-Salazar et al., 2016). The GBS approach is rapid and may sample important regions of the genome that are inaccessible to previous genotyping methods (Peterson et al., 2014) and is much more likely to target non-coding (in addition to coding) parts of the genome (Clevenger et al., 2015). Genotyping by sequencing generates a large number of single nucleotide polymorphisms (SNPs), which are abundant within the genome, co-dominant, and amenable to high-throughput analyses with low error rate (Hand et al., 2012). SNPs can be discovered by the alignment of sequences to reference genome (Alipour et al., 2019), or a *de novo* reference using a bioinformatics pipeline such as Universal Network Enabled Analysis Kit (UNEAK; (Fei et al., 2013) implemented in the TASSEL-GBS software program (Glaubitz et al., 2014). Although some species require creative modeling strategies, difficulties can be overcome and high-quality

Species	Accession/Cultivar number ^a	Accession/Cultivar name ^a	Site Name/ Breeding origin	Label
Cocksfoot	438	Ruines_de_djemila	Ruines de djemila (Djemila,Setif)	Rdj
	439	Anouche	Anouche (El Milia)	Anc
	447	El_adaiek	El adaiek (skikda)	Edk
	452	Bone_faid_bouteldja	Bone faid bouteldja (Asfour, ElTarf)	Bfd
	0010	Medly	France	Med
	0011	Ludac	France	Lud
Tall fescue	4953	FE5718	Tichy (Bejaia)	FE5718
	4968	FE5725	Bone faid bouteldja (Asfour, ElTarf)	FE5725
	5019	FE5729	Zarouria (Souk Ahras)	FE5729
	7010	Centurion	France	Cen
	7011	Lutine	France	Lut

TABLE 1 Populations and cultivars of cocksfoot and tall fescue used in this study

^aAccession number and name are listed as mentioned by Pluridisciplinary Research Unit of Grasslands and Forage Plants of the Poitou-Charentes.

SNPs can be detected reliably in even the most difficult polyploid species (Clevenger et al., 2015).

The aim of the present paper was to apply GBS in combination with the UNEAK bioinformatics pipeline to identify genome-wide SNP markers and to assess the genetic diversity within and between Algerian populations and cultivars of cocksfoot and tall fescue.

2 | MATERIALS AND METHODS

2.1 | Plant materials

Plants materials used in this study were composed of four Algerian populations of cocksfoot, three Algerian populations of tall fescue, and two cultivars of both species to be used as references (Table 1). Populations were collected in 1988 from different regions in Algeria (Figure 1) by the Technical Institute for Field Crops (Algiers), Higher National Agronomic School (ex: INA, Algiers), and the Pluridisciplinary Research Unit of Grasslands and Forage Plants of the Poitou-Charentes (Lusignan, France). The collections have been conserved and were obtained in France by National Institute of Agronomic Research (INRA). 'Medly' is a cocksfoot cultivar of Mediterranean origin and was bred in the south of France (Volaire, 2002) whereas 'Ludac' is non-Mediterranean cultivar known for its high biomass productivity in temperate and wet areas (Kallida et al., 2016). "Centurion" is a tall fescue cultivar obtained by parents selected from southern Italy and Tunisia, and "Lutine" is a hybrid of temperate and Mediterranean materials (Lelievre & Volaire, 2009).

Seeds of each genotype were germinated and grown for six weeks in a greenhouse at the Forage and Range Research Laboratory (Utah, USA) under the following growth conditions: 14 hr photoperiod at 22°C and 10 hr dark at 16°C. Young leaves were harvested and stored at -80°C in a freezer, and lyophilized prior to DNA extraction. Twelve to sixteen plants from each population or cultivar were used for DNA extraction, except for accession FE5718, from which only six plants germinated and were collected.

2.2 | Flow cytometry for Ploidy Estimation

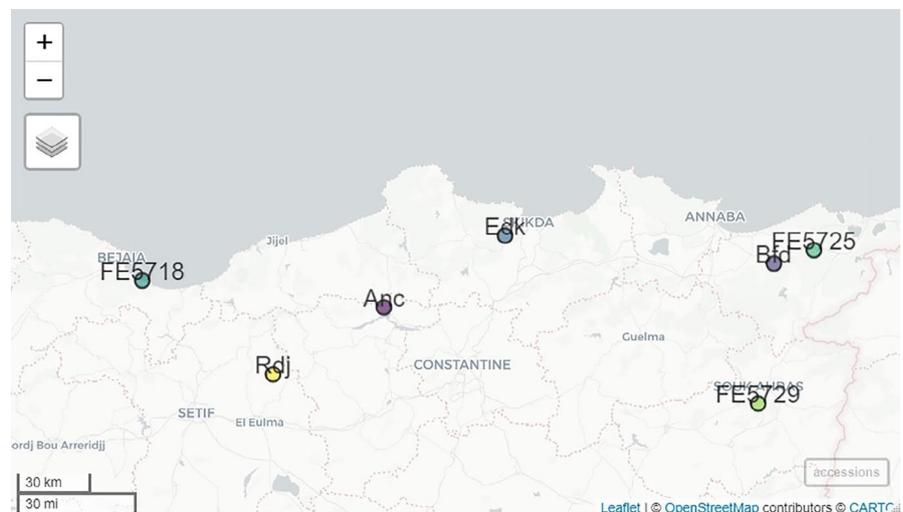
The relative ploidy level of all plants from both species was estimated by flow cytometry. Approximately 50 mg of young leaves of each sample was chopped using a scalpel in 1 ml of cold extraction buffer (10 mM MgSO₄, 50 mM KCl, 5 mM HEPES, 1 mM DTT, 0.25% (v/v) Triton X-100, and 0.1% (v/v) 10 mg/ml RNase A), filtered through a 30 µm nylon filter, and mixed with 0.1 mg/ml propidium iodide (PI). Samples were set in the dark for at least 15 min at room temperature, briefly mixed, and ploidy level estimated on a BD Accuri™ C6 flow cytometer (Becton Dickinson, New Jersey, USA). Sample peaks were compared to the diploid cocksfoot variety "Conrad" for relative ploidy levels.

2.3 | Sequencing and genotyping

The genomic DNA was extracted from approximately 25 to 30 mg of dry tissue (obtained after lyophilizing for 3 days) following the Qiagen DNeasy protocol and quantified with picogreen fluorometry using a GloMax®-Multi Detection System (Promega, Wisconsin, USA). For the GBS library preparation, the final DNA concentration was adjusted to 20 ng/µl using an epMotion® P5073 (Eppendorf, New York, USA) automated pipetting solution. The GBS library was prepared following (Poland & Brown, 2012) protocols using a combination of the restriction enzymes PstI (CTGCAG) and MspI (CCGG), and sequenced on an Illumina NextSeq in the Center for Integrated Biosystems at Utah State University.

Because no reference genome was available for either tall fescue or cocksfoot, the SNP discovery was performed by the use of UNEAK (Universal Network Enabled Analysis Kit) pipeline (Fei et al., 2013). Raw sequence reads were trimmed to 64bp. Parameters for calling SNPs were as follows: a minimum of 9 reads for one allele and 0 reads for other allele to call a homozygous SNP, a minimum of 2 reads for each allele (4 reads total) to call a heterozygous SNP, and for autotetraploid cocksfoot a minor allele count greater than 6.7% within a sample to be considered a heterozygous SNP rather

FIGURE 1 Geographical distribution of populations of cocksfoot and tall fescue across Algeria. This figure was produced using the R software version 3.6.1 with the packages: mapview version 2.6.0 (<https://cran.r-project.org/web/packages/mapview/index.html>) and sf version 0.8-0 (<https://github.com/r-spatial/sf/>)



than error. If none of those conditions were met, the genotype was called as missing data. Finally, only markers with minor allele frequency (MAF) in the population greater than 5% and a missing data threshold <30% were kept.

2.4 | Analysis

Before running analysis in R (V.3.6.1), the hapmap file obtained by the UNEAK pipeline was converted into a text file that is usable by poppr (Kamvar et al., 2014), adegenet (Jombart & Ahmed, 2011), and ade4 (Bougard & Dray, 2018) packages using a custom script. For the genetic distance matrix, the function `bitwise.dist` in the package poppr was used. For cluster analysis, data were analyzed to determine relationship among individuals and populations with bootstrap support, using the unweighted paired group method (UPGMA) with the `aboot` function, also in the poppr package. Principle component analysis (PCA) was performed in the ade4 package using the `dudi-pca` function.

The analysis of molecular variance (AMOVA) was performed to analyze genetic variation among and within individuals (ϕ_{st} is an analogue of Wright's fixation index F_{ST}) using 1,000 permutations of the data to assess statistical significance, implemented in Genalex v6.51 (Peakall & Smouse, 2012). The gene flow (Nm) among populations was conducted as $Nm = [(1 - \phi_{st})/4 \phi_{st}]$ whereas isolation by distance (IBD) was performed by a mantel test between pairwise ϕ_{st} and geographical distance using IBD v1.52 (Bohonak, 2002).

3 | RESULTS

3.1 | Ploidy level determination

Flow cytometry was used to estimate the ploidy level of both cocksfoot and tall fescue. The results mentioned in Figure 2 showed only two representative examples of each ploidy level. The main peak for the diploid reference cultivar "Conrad" occurred at approximately 300,000 (Figure 2A), while the cocksfoot populations and cultivars showed a main peak approximately 1.5 times larger (Figure 2B and C). Furthermore, all plants from each cocksfoot entry had peaks of the same size, showing no evidence of mixed ploidy. For tall fescue, all plants from all entries but one had their main peak 3-fold larger than the Conrad reference. These peaks (Figure 2D and E) represent hexaploid tall fescue populations and cultivars. The plants from the cultivar Lutine, however, showed a main peak 6-fold larger than Conrad, which highlighted the doubled ploidy level of that cultivar (Figure 2F). The standard coefficient of variation (CV) of each measurement was <7% for all runs (File S1).

3.2 | Genotyping by sequencing analysis

Sequencing of the GBS libraries yielded approximately 450 million raw reads with sequence lengths of 92 bp and a 54% GC content. Using the UNEAK pipeline, a total number of unique tags was 17,803,813 for cocksfoot and 20,267,834 for tall fescue. Pairwise alignment was performed and 3961 tag pairs were obtained for

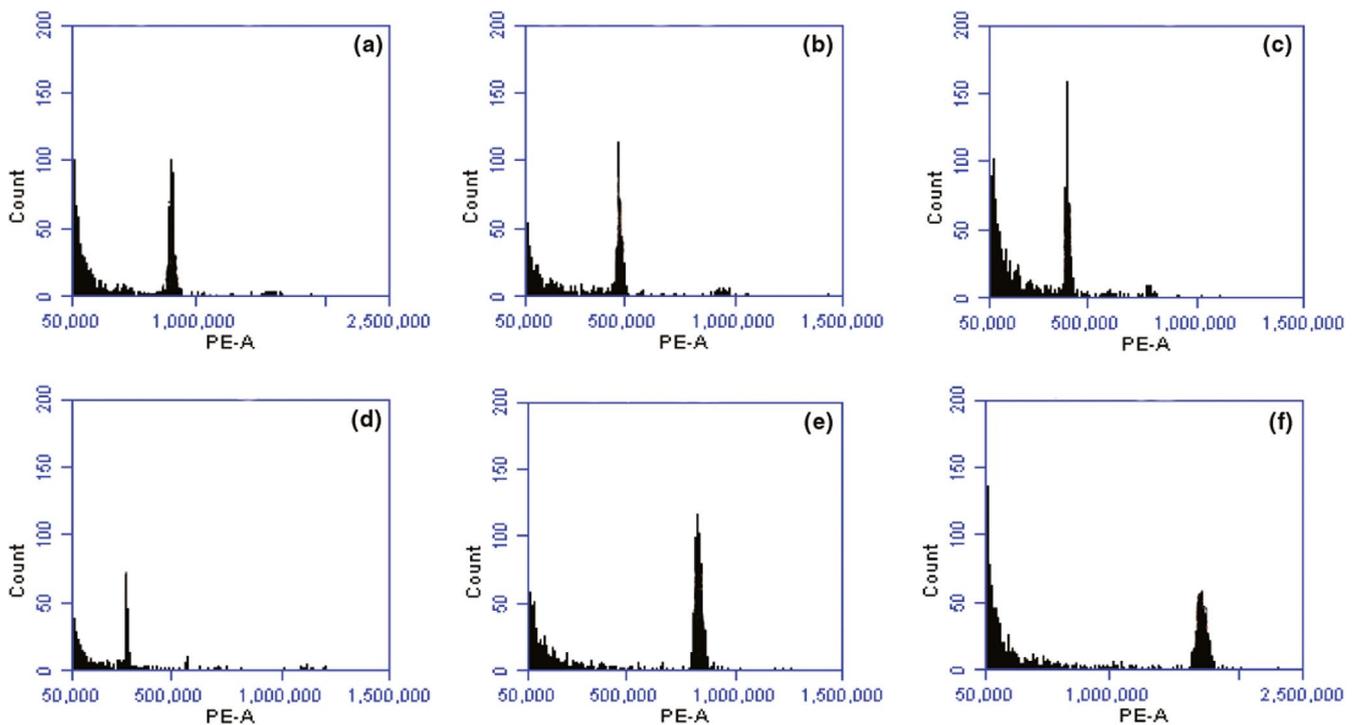


FIGURE 2 Examples of flow cytometry histograms of relative propidium iodide (PI) fluorescence intensity obtained from cocksfoot for the cultivar Conrad (a), population Edk (b), and the cultivar Ludac (c). Also, examples of tall fescue population FE5718 (d), the cultivar Centurion (e), and the cultivar Lutine (f)

cocksfoot and 4757 for tall fescue. After filtering for missing values (<30%) and a MAF greater than 5%, 787 useable SNPs were found for cocksfoot and 743 for tall fescue.

3.3 | Genetic diversity analysis

The AMOVA revealed that genetic diversity within populations contributed to 88% and 86% of overall genetic diversity in cocksfoot and tall fescue, respectively.

The values obtained of fixation index (F_{ST}) estimated from genetic polymorphism data of SNP markers were 0.127 and 0.140 for cocksfoot and tall fescue, respectively. While the mean value of F_{IS} was 0.180 for cocksfoot and 0.025 for tall fescue (Tables 2 and 3). According to the pairwise distance matrix, the highest genetic distance was recorded between Anouche-07/Ludac-02 (0.265) and the lowest was observed between some individuals within Medly: Medly-10/ Medly-03 and between Medly-09/Medly-10 (0.00012) (File S2); however, for tall fescue the highest genetic distance (0.212) occurred between genotypes Lutine10 and FE5725-13, and the lowest (0.025) was observed between Lutine 12/Lutine 04 (File S3).

3.4 | Clustering of accessions

To characterize the relatedness among the 88 plants of cocksfoot, a dendrogram was constructed using UPGMA clustering. The Ludac and all but two of the Medly plants grouped with 100% bootstrap support, indicating their distinctness as cultivars. The cocksfoot Bfd and Anc populations grouped as with bootstrap support, Edk grouped but included two Medly plants, and Rdj grouped adjacent to either Edk or Medly.

The Structure analysis of the cocksfoot populations and cultivars was similar to the UPGMA clusters, which revealed two major clusters. The first structured group was represented by cultivars Medly,

Ludac, and some individuals of the population Rdj. The second major cluster enclosed two subclusters, represented by a largest group of populations. Some individuals of cultivar Medly and the population Rdj presented a large diffusion between the two clusters (Figure 3). For PCA analysis, the first and second components represent 21.9 % and 5.5% of the total variation for cocksfoot (Figure 4). Similar to UPGMA and Structure analyses, the PCA showed distinct groupings of Bfd, Anc, and Edk, while Rdj was dispersed and closer to the cultivar Medly.

For the 68 tall fescue samples, UPGMA clustering first separated the Lutine cultivar from the other entries, followed by Centurion. The three populations were intermixed within the remaining nodes, with high levels of diversity.

Structure analysis found two major clusters, the first represented by individuals from the genotypes Centurion, FE5729, FE5718, and FE5725. The second major cluster consisted of the cultivar Lutine, which was the most distant from all studied genotypes (Figure 5). For PCA analysis, the first and second principal components represented 17.9 % and 11.2 % of the total variation for tall fescue. Unlike cocksfoot, all five entries grouped tightly and separately from each other (Figure 6).

Relationships between genotypes were independent from their geographical origin, and this independence was confirmed by a lack of significant correlation between genetic (molecular marker based) and geographical distances for the two species. The cocksfoot matrix correlation between the genetic and geographical distance was $r = 0.062$, $p = 0.6320$. However, for tall fescue, even though the statistical test was not significant ($p = 0.1590$) the matrix correlation coefficient was high ($r = 0.9907$).

4 | DISCUSSION

Algeria is a country rich in forage and pastoral phylogenetic resources; unfortunately, there is not much information available

TABLE 2 Analysis of molecular variance of cocksfoot genotypes based on SNP markers

Source of variation	df	Sum of squares	Mean of squares	Estimated variance	Percent variation
Among entries	5	19929,461	3985,892	107,521	13%
Within entries					
Among individuals	81	70832,039	874,470	133,634	16%
Within individuals	87	52826,500	607,201	607,201	72%
Total	173	143588,000		848,356	100%
F-Statistics	Value	p-value			
F_{st}	0,127	.010			
F_{is}	0,180	.010			
F_{it}	0,284	.010			
F_{st} max	0,626				
F'_{st}	0,202				
Nm	1,723				

Note: SNP, single nucleotide polymorphism.

Source of variation	df	Sum of squares	Mean of squares	Estimated variance	Percent variation
Among entries	4	21099,366	5274,842	161,985	14%
Within entries					
Among individuals	62	63223,022	1019,726	25,266	2%
Within individuals	67	64936,000	969,194	969,194	84%
Total	133	149258,388		1156,445	100%
F-statistics	Value	p-value			
F_{st}	0.140	.010			
F_{is}	0.025	.290			
F_{it}	0.162	.010			
$F_{st\ max}$	0.581				
F'_{st}	0.241				
Nm	1.535				

TABLE 3 Analysis of molecular variance of tall fescue genotypes based on SNP markers

Note: SNP, single nucleotide polymorphism.

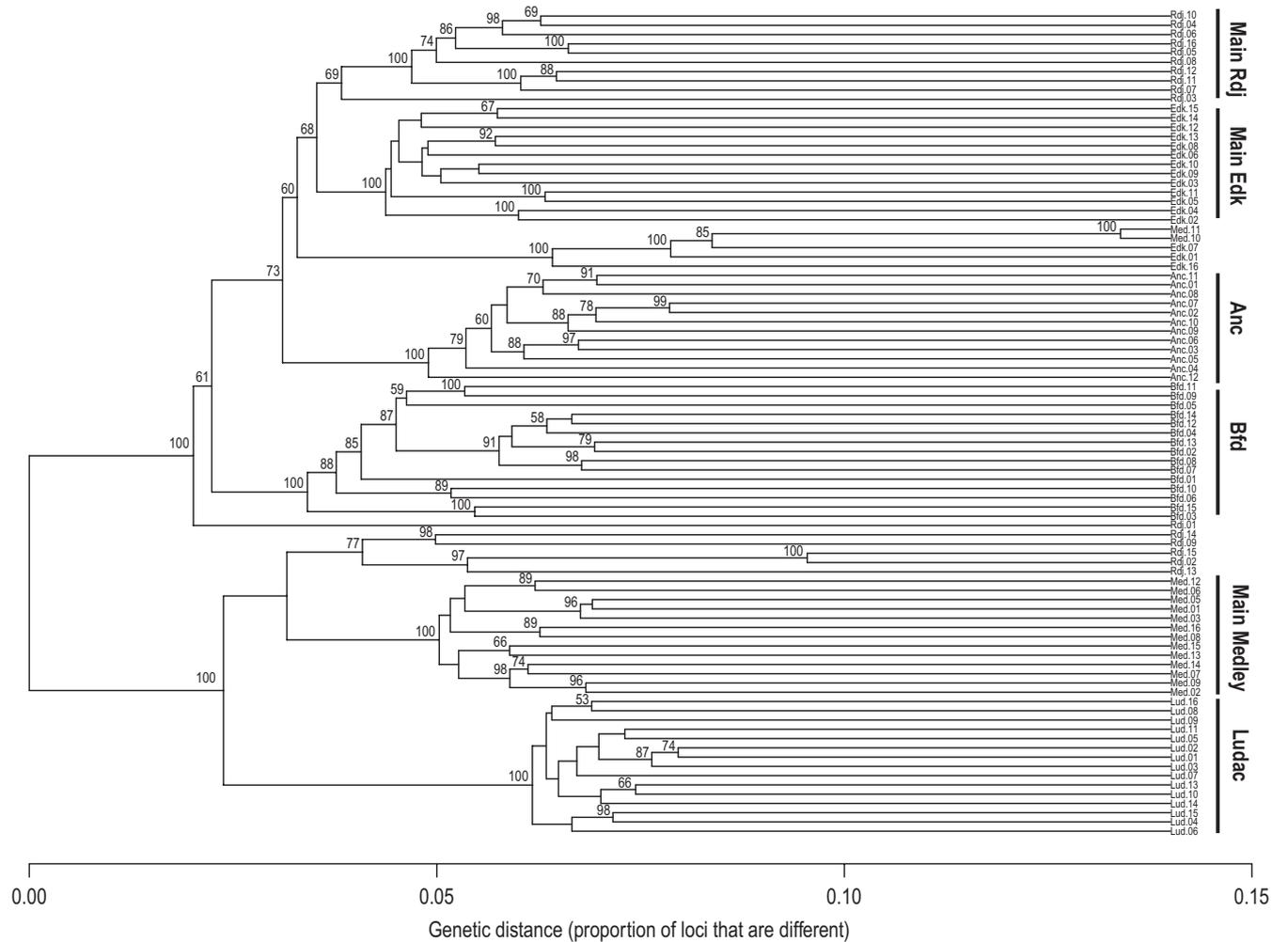
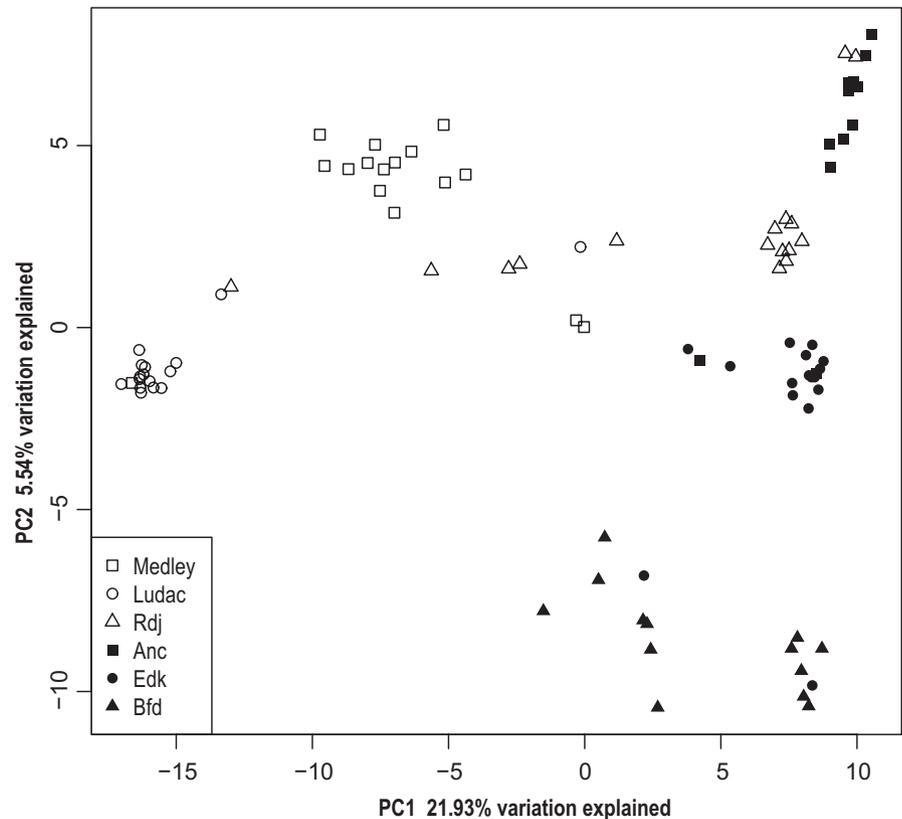


FIGURE 3 unweighted pair group method with arithmetic mean clustering with mid-point rooting and bootstrap support of populations and cultivars of cocksfoot

about their grassland characteristics, and few studies have been conducted to characterize the local ecotypes and identify and select important grass populations. These types of studies are necessary

to find plant materials well adapted to Algerian conditions and able to be introduced in breeding programs. Ploidy level information is also important to know, in order to avoid interploidy crosses that

FIGURE 4 Principal component analysis (PCA) based on genotyping by sequencing data of cocksfoot genotypes



would result in poor seed set. In the present study, we approached a genetic diversity assessment and ploidy level assessment of four populations of cocksfoot and three populations of tall fescue collected from different regions in Algeria, and compared these populations to two cultivars of both species.

In North Africa, tall fescue diversified into ecotypes up to decaploid levels (Ghesquière & Jadas-Hecart, 2015). In the present study, the flow cytometry analysis revealed the hexaploidy ($2n = 6x$) of all tall fescue populations and one of the cultivars. The cultivar Lutine was also revealed as amphiploid cultivar that was previously cited by (Lelievre & Volaire, 2009). This cultivar is known as a non-dormant, summer-active cultivar with habit and behavior close to temperate types since it is a hybrid of temperate and mediterranean materials. Interestingly, its ploidy level is double the size of the other tall fescue entries, suggesting that it carries a full complement of both Mediterranean and continental genetic material. As a contrast, the cultivar Centurion and the accessions are Mediterranean types (Lelièvre et al., 2008), and show a ploidy level of $6x$. These characteristics of Lutine likely reflect the molecular marker results, which showed it as a genetically differentiated group with both structure and PCA analyses (Figure 5). For cocksfoot, the genus *Dactylis* includes several diploid, tetraploid, and hexaploid subspecies but those of North Africa are from two types, diploids and tetraploids (Abdelguerfi, 2004). Regarding our results, all cocksfoot populations were nearly 2-fold larger than the check diploid cultivar Conrad. Whereas there is a significant range in chromosome sizes, even within diploid cocksfoot (M. Tuna, *personal communication*), we have found that Conrad carries a large enough set of chromosomes

that a perfect 2-fold difference was not detected. As such, these results confirm C. Mousset, 2000, who cited that *Dactylis glomerata* L. *subsp. Hispanica* (Roth) Nyman has great phenotype variability, and have been found to be tetraploid ($2n = 4x = 28$).

The hierarchical distribution of genetic variation among and within populations was characterized by analysis of molecular variance (AMOVA). The result mentioned in the Tables 2 and 3) indicated that the genetic variability for both species predominantly existed within individuals rather than among populations; in addition, Figures 3 and 5 confirmed the AMOVA results, with longer branch lengths between samples that can be expressed by higher number of substitutions per site, highlighting the higher genetic variability within individuals of the same accession. We noticed a high value of gene flow (Nm) for both species, 1.723 for cocksfoot, and 1.535 for tall fescue, suggesting more opportunities of allelic exchange and population admixture. Typically, a high degree of gene flow is very common in self-incompatible and wind-pollinating grass species leading to low genetic variation among individuals and populations (Govindaraju, 1989).

That apportioning of genetic variability mainly within entries agreed with the moderate amount of total genetic differentiation (F_{st}) according to Wright, 1978. On the other hand, a substantial genetic differentiation was found between the cultivars and populations, for both cocksfoot and tall fescue. For example, the F_{ST} value between the cocksfoot cultivar Ludac and the population Anouche was 0.269, and the F_{ST} value between the tall fescue cultivar Centurion and the population FE5718 was 0.199 (File S4). For tall fescue, in particular, even though the Mantel's statistical test

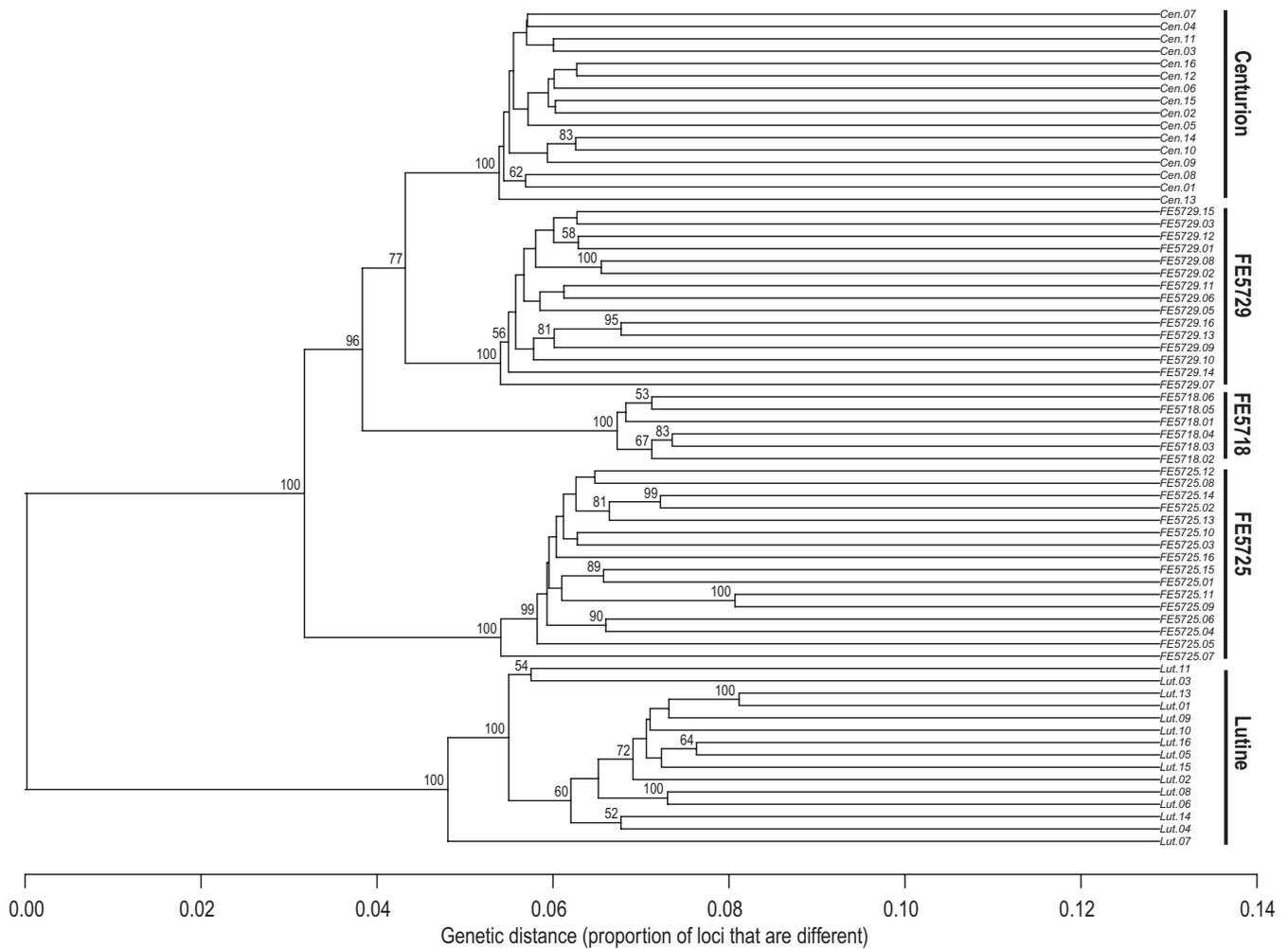


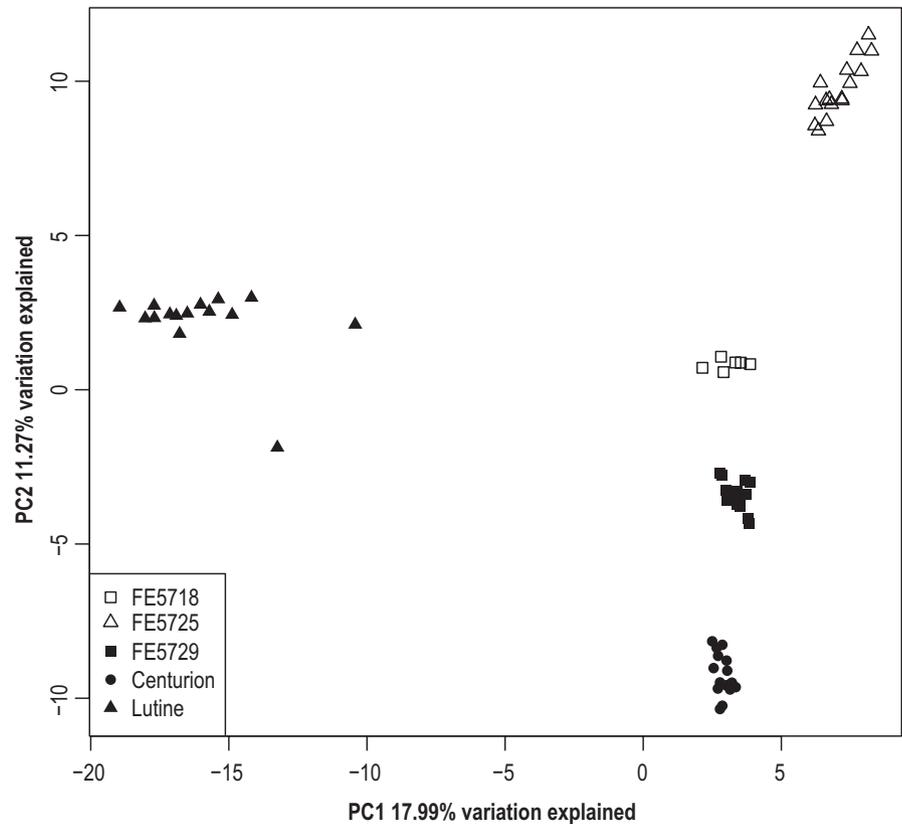
FIGURE 5 unweighted pair group method with arithmetic mean clustering with mid-point rooting and bootstrap support of populations and cultivars of tall fescue

was not significant, the matrix correlation coefficient was high. The tall fescue populations were generally more distinct from each other compared to the cocksfoot populations, and grouped tightly and separately from each other in PCA analysis (Figure 6). That distinctness likely showed up as a higher matrix correlation value and a suggestion that there might be isolation by distance between those tall fescue populations (more than 750 km between some populations). However, further collections would need to be made, if present, between these groups to confirm this tendency of isolation by distance.

The unrooted neighbor-net tree of populations based on Nei's genetic distance classified genotypes of cocksfoot and tall fescue in two major clusters each, similar to both the Structure and PCA results. These data showed a genetic distinctness of populations compared to cultivars for both species, as the respective populations grouped together in the subgroups separate from the cultivars (Figures 3 and 5). These results show the uniqueness of these populations compared to available cultivar germplasm and suggest that the populations would be a unique source of genetic variation in cultivar development.

Within these subgroups for each species, some more subtle patterns were detected. The cultivated variety Centurion grouped closer to the population FE5729 than the other populations, for tall fescue (Figure 6). This grouping may partially be explained by the fact that Centurion germplasm came from southern Italy and Tunisia (Lelievre and Volaire, 2009) and FE5729 was collected from eastern Algeria, more precisely in Souk Ahras, which is close to Tunisia (209 km). For cocksfoot, the cultivars Ludac and Medly grouped closest to the population Rdj (Figure 4). Additionally, Rdj, in particular, seems to have a broader genetic base than other cocksfoot populations, indicated by a wider spread on the PCA (Figure 4). This information may assist plant breeders in their decisions, whether they prefer to introgress closely or distally related germplasm in their breeding efforts. With both Centurion and Medly carrying interesting and value-added traits for Algerian pastures (Mefti et al., 2016), the infusion of Algerian germplasm and further cultivar improvement could broaden their selection potential. As further field evaluations of these unique Algerian populations occur, those with value-added traits can be incorporated into improved cultivars.

FIGURE 6 Principal component analysis (PCA) based on genotyping by sequencing data of tall fescue genotypes



5 | CONCLUSION

In the present paper, we confirmed the ploidy level and investigated the genetic diversity and relationships of Algerian populations of cocksfoot and tall fescue using GBS. Hundreds of high-quality sequenced SNPs revealed a high level of genetic diversity within populations, a uniqueness of Algerian populations compared to cultivar checks, and the relationship of populations to each other. This information is essential for breeding programs as well as for conservation of intraspecific diversity.

The results obtained in this study provide a useful knowledge for the relationship and selection of local perennial grass ecotypes for forage production well adapted to Algerian conditions.

ACKNOWLEDGMENTS

We are thankful to USDA Forage and Range Research Laboratory (Utah) for the technical assistance in this work. This research was supported by the Ministry of the Higher Education and Scientific Research from Algeria and by the Algerian American Foundation.

ORCID

Hadjer Benfriha  <https://orcid.org/0000-0002-5351-0579>

Matthew Robbins  <https://orcid.org/0000-0002-5467-4452>

REFERENCES

Abdelguerfi, A. (2004). Les ressources génétiques d'intérêt fourrager et/ou pastoral : Diversité, collecte et valorisation au niveau méditerranéen. *CIHEAM, Options Méditerranéennes*, 62, 29–41.

- Abdelguerfi, A., & Laouar, M. (2008). Les productions fourragères et pastorales en Algérie : Situation et Possibilités d' Amélioration. *Revue Semestrielle. "Agriculture & développement" (INVA, Alger)*, 6, 14–25.
- Alipour, H., Bai, G., Zhang, G., Bihanta, M. R., Mohammadi, V., & Peyghambari, S. A. (2019). Imputation accuracy of wheat genotyping-by-sequencing (GBS) data using barley and wheat genome references. *PLoS ONE*, 14(01), 1–20. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208614>
- Berthouly-Salazar, C., Mariac, C., Couderc, M., Pouzadoux, J., Floc'h, J.-B., & Vigouroux, Y. (2016). Genotyping-by-Sequencing SNP Identification for Crops without a Reference Genome: Using Transcriptome Based Mapping as an Alternative Strategy. *Frontiers in Plant Science*, 7, 777. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00777>
- Bohonak, A. J. (2002). IBD (Isolation By Distance): A program for analyses of isolation by distance. *Journal of Heredity*, 93, 153–154.
- Boller, B., & Greene, S. L. (2010). Genetic Resources. In B. Boller, U. K. Posselt, & F. Veronesi (Eds.), *Fodder crops and amenity grasses* (pp. 13–37). New York, NY: Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-0760-8_2
- Borrill, M., Tyler, B., & Lloyd-Jones, M. (1971). Studies in Festuca. I. A chromosome atlas of bovinæ and scariosæ. *Cytologia*, 36, 1–14.
- Bougeard, S., & Dray, S. (2018). Supervised Multiblock Analysis in R with the ade4 Package. *Journal of Statistical Software*, 86(1), 1–17. <https://doi.org/10.18637/jss.v086.i01>
- Mousset, C. (2000). Rassemblement, utilisation et gestion des ressources génétiques de dactyle à l'INRA de Lusignan. *Fourrages*, 162, 121–139.
- Clevenger, J., Chavarro, C., Pearl, S. A., Ozias-Akins, P., & Jackson, S. A. (2015). Single Nucleotide Polymorphism Identification in Polyploids : A Review, Example, and Recommendations. *Molecular Plant*, 8, 831–846.
- Fei, Lu, Lipka, A. E., Glaubitz, J., Elshire, R., Cherney, J. H., Casler, M. D., Buckler, E. S., & Costich, D. E. (2013). Switchgrass genomic diversity, ploidy, and evolution : novel insights from a network-based snp discovery protocol. *PLoS Genetics*, 9(1), 1–14. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003215>

- Ghesquière, M., & Jadas-Hecart, J. (2015). Les fétuques ou le genre festuca. *Ressources génétiques des plantes fourragères et à gazon*. <https://prodinra.inra.fr/?locale=fr#!ConsultNotice:123633>
- Glaubitz, J., Casstevens, T., Lu, F., Harriman, J., Elshire, R., Sun, Q., & Buckler, E. (2014). TASSEL-GBS : A high capacity genotyping by sequencing analysis pipeline. *PLoS One*, 9, e90346. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0090346>
- Govindaraju, D. R. (1989). Variation in gene flow levels among predominantly self-pollinated plants. *Journal of Evolutionary Biology*, 2(3), 173–181. <https://doi.org/10.1046/j.1420-9101.1989.2030173.x>
- Hand, M. L., Cogan, N. O. I., & Forster, J. W. (2012). Genome-wide SNP identification in multiple morphotypes of allohexaploid tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb). *BMC Genomics*, 13(1), 219–235. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-219>
- Hoveland, C. (2005). Origin and history of tall fescue. In H. A. Fribourg, & D. B. Hannaway (Eds.), *Tall fescue On-line Monograph*. Corvallis, OR: Oregon State University.
- Huang, Y.-F., Poland, J. A., Wight, C. P., Jackson, E. W., & Tinker, N. A. (2014). Using genotyping-by-sequencing (GBS) for genomic discovery in cultivated oat. *PLoS ONE*, 9(7), e102448. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0102448>
- Hulten, E. (1968). *Flora of Alaska and neighboring territories*. Palo Alto, CA: Stanford University Press.
- Jombart, T., & Ahmed, I. (2011). adegenet 1.3-1 : New tools for the analysis of genome-wide SNP data. *Bioinformatics*, 27(21), 3070–3071. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr521>
- Kallida, R., Zhou, L., Volaire, F., Guerin, A., Julier, B., Shaimi, N., Fakiri, M., & Barre, P. (2016). Combining drought survival via summer dormancy and annual biomass productivity in *Dactylis glomerata* L. *Frontiers in Plant Science*, 7, 82. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00082>
- Kamvar, Z. N., Tabima, J. F., & Grünwald, N. J. (2014). Poppr: An R package for genetic analysis of populations with clonal, partially clonal, and/or sexual reproduction. *PeerJ*, 2, e281. <https://doi.org/10.7717/peerj.281>
- Lelièvre, F., Satger, S., & Volaire, F. (2008). Water use efficiency in a mild season and water cost of summer survival of perennial forage grasses in Mediterranean areas. *Field Crops Research*, 79, 259–263.
- Lelièvre, F., & Volaire, F. (2009). Current and potential development of perennial grasses in rainfed mediterranean farming systems. *Crop Science*, 49, 2371–2378.
- Mefti, M., Bouzerzour, H., Francia, E., Ulrici, A., Abdelguerfi, A., Barre, P., & Pecchioni, N. (2016). Agronomic and molecular evaluation of cocksfoot and tall fescue cultivars for adaptation to an Algerian drought-prone environment. *Euphytica*, 212(3), 371–386. <https://doi.org/10.1007/s10681-016-1762-7>
- Norton, M. R., Volaire, F., Lelièvre, F., & Fukai, S. (2009). Identification and Measurement of Summer Dormancy in Temperate Perennial Grasses. *Crop Science*, 49(6), 2347–2352. <https://doi.org/10.2135/cropsci2009.06.0319>
- Peakall, R., & Smouse, P. E. (2012). GenAlEx 6.5: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update. *Bioinformatics*, 28(19), 2537–2539. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts460>
- Peterson, G. W., Dong, Yibo, Horbach, C., & Yong-Bi, F. (2014). Genotyping-By-sequencing for plant genetic diversity analysis: A lab guide for SNP genotyping. *Diversity*, 6(4), 665–680. <https://doi.org/10.3390/d6040665>
- Poland, J. A., Brown, P. J., Sorrells, M. E., & Jannink, J.-L. (2012). Development of high-density genetic maps for barley and wheat using a novel two-enzyme genotyping-by-sequencing Approach. *PLoS ONE*, 7(2), 1–8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0032253>
- Sampoux, J.-P., Barre, P., Litrico, I., Fourtier, S., Willner, E., & Nehrlich, S. (2013). La diversité naturelle des graminées fourragères : Une ressource génétique à mieux connaître, préserver et valoriser depuis l'échelle locale jusqu'à l'échelle continentale. *Innovations Agronomiques*, 29, 45–60.
- Stewart, A., & Ellison, N. (2010). *The genus Dactylis; wealth of wild Species: Role in plant genome elucidation and improvement* (Vol. 2). New York, NY: Springer.
- Tolmachev, A., Packer, J., & Griffiths, G. (1995). *Flora of the Russian arctic, Polypodiaceae Gramineae*. Edmonton, AB: University of Alberta Press Publishing.
- Volaire, F. (2002). Drought survival, summer dormancy and dehydrin accumulation in contrasting cultivars of *Dactylis glomerata*. *Physiologia Plantarum*, 116, 42–51. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2008.04.008>
- Wright, S. (1978). Evolution and the genetics of populations, variability within and among natural. <https://www.press.uchicago.edu/ucp/books/book/chicago/E/bo3642015.html>

SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information may be found online in the Supporting Information section.

How to cite this article: Benfriha H, Mefti M, Robbins M, Thorsted K, Bushman S. Molecular characterization of Algerian populations of cocksfoot and tall fescue: Ploidy level determination and genetic diversity analysis. *Grassl Sci.* 2020;00:1–10. <https://doi.org/10.1111/grs.12304>

Résumé

L'Algérie est un pays riche en ressources phytogénétiques fourragères et pastorales, qui sont peu caractérisées à l'heure actuelle telles que les graminées pérennes, qui présentent une diversité naturelle très particulière parmi les espèces végétales. La présente étude porte sur la caractérisation morpho-physiologique de populations algériennes de dactyle (*Dactylis glomerata* L.) et de fétuque élevée (*Festuca arundinacea* Schreb.) au cours de deux campagnes agricoles (2016-2017 et 2017-2018). À travers les résultats obtenus et discutés il est à noter qu'il existe une variabilité importante entre les génotypes pour l'ensemble des paramètres testés. Cette étude nous a permis de faire ressortir les génotypes performants caractérisés par un haut rendement, une bonne croissance en hauteur, une précocité à l'épiaison ainsi qu'une bonne persistance et efficacité d'utilisation de l'eau, il s'agit essentiellement des populations de dactyle qui se sont montrées plus performantes que les fétuques. Certains génotypes par contre se sont montrés incapables de persister après la période de dormance estivale, il s'agit particulièrement de quelques populations de fétuque élevée et des cultivars Ludac et Lutine. L'étude pour la tolérance à la sécheresse a montré que le stress hydrique réduit considérablement la surface foliaire, la teneur relative en eau, la biomasse aérienne et racinaire, mais il permet une forte accumulation des sucres solubles et de proline chez l'ensemble des génotypes étudiés notamment chez les populations de dactyle, qui se sont montrés plus performants et tolérants par rapport aux cultivars. L'analyse moléculaire quant à elle a montré que le séquençage de la librairie « GBS » a produit 787 SNPs de haute qualité pour le dactyle et 743 pour la fétuque élevée. L'analyse pour la diversité génétique a révélé que 88% et 86% de la diversité génétique globale chez le dactyle et la fétuque élevée respectivement est au sein des individus plutôt qu'entre les populations. La classification des génotypes sur la base des distances génétiques ainsi que l'analyse en composantes principale ont montré une distinction génétique des populations algériennes par rapport aux cultivars. Le matériel végétal d'origine algérienne étudié représente une ressource génétique qui mérite d'être valorisée dans les futurs programmes d'amélioration.

Mots clés : graminées pérennes, matière sèche, persistance, EUE, diversité génétique, SNP

Abstract

Algeria is a country rich in forage phylogenetic resources and pastoral, which are less characterized at present such as perennial grasses, which presents a very particular natural diversity among plant species. The present study focuses on the morpho-physiological characterization of Algerian populations of cocksfoot (*Dactylis glomerata* L.) and tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.) during two agricultural campaigns (2016-2017 and 2017-2018). Through the results obtained and discussed, it should be noted that there is significant variability between the genotypes for all the parameters tested. This study allowed us to bring out the performing genotypes characterized by high yield, good height growth, early heading as well as good persistence and efficiency of water use, it concerns essentially populations of cocksfoot which have been shown to be more efficient than fescues. On the other hand, some genotypes have been shown to be unable to persist after the summer dormant period, particularly some populations of tall fescue and the cultivars Ludac and Lutine. The study for drought tolerance showed that water stress considerably reduces leaf area, relative water content, dry matter and root biomass, but it allows a high accumulation of soluble sugars and proline in all plants. Genotypes studied in particular populations of dactyl, have been shown to be more efficient and tolerant compared to cultivars. Molecular analysis showed that the sequencing of the "GBS" library produced 787 high quality SNPs for cocksfoot and 743 for tall fescue. Analysis for genetic diversity revealed that 88% and 86% of the overall genetic diversity in cocksfoot and tall fescue respectively is within individuals rather than among populations. Classification of genotypes based on genetic distances as well as principal component analysis showed a genetic distinction of Algerian populations from cultivars. The plant material of Algerian origin studied here represents a genetic resource that deserves to be developed in future breeding programs

Key words: perennial grasses, dry matter, persistent, WUE, genetic diversity, SNP

ملخص

الجزائر بلد غني بالموارد النباتية العلفية والرعية ، و التي هي أقل دراسة في الوقت الحاضر على غرار الحشائش المعمرة ، التي تقدم تنوعاً طبيعياً خاصاً للغاية بين الأنواع النباتية. تركز الدراسة الحالية على التوصيف المورفولوجي و الفيزيولوجي لأنماط جزائرية من الاصبعية (*Dactylis glomerata* L.) و الفستوقة (*Festuca arundinacea* Schreb.) خلال موسمين زراعيين (2016-2017 و 2017-2018). من خلال النتائج التي تم الحصول عليها ومناقشتها ، تجدر الإشارة إلى أن هناك تبايناً كبيراً بين الطرز الجينية لجميع المعلمات التي تم اختبارها. سمحت لنا هذه الدراسة بإبراز الأنماط الجينية الفعالة التي تتميز بإنتاجية عالية ونمو جيد في الطول والتكبير بالإضافة إلى الاستمرارية الجيدة والكفاءة في استخدام المياه ، يتعلق الأمر بشكل أساسي بأنماط الاصبعية التي أظهرت أداء أفضل من الفستوقة . من ناحية أخرى ، فقد ثبت أن بعض الأنماط الجينية غير قادرة على الاستمرار بعد فترة الخمول الصيفي ، خاصة بعض أنماط الفستوقة والأصناف Ludac و Lutine . أظهرت دراسة تحمل الجفاف أن الإجهاد المائي يقلل بشكل كبير من مساحة الأوراق والمحتوى المائي النسبي والمادة الجافة والكتلة الحيوية للجذور، ولكنه يسمح بتراكم عالي من السكريات القابلة للذوبان والبرولين في جميع النباتات. الأنماط الجينية التي تمت دراستها من الاصبعية ثبتت أنها أكثر كفاءة وتحملاً للجفاف مقارنة بالأصناف المستتبّة. أظهر التحليل الجزيئي أن تسلسل مكتبة "GBS" أنتج 787 SNP عالي الجودة للأصبعية و 743 للفستوقة . كشف تحليل التنوع الجيني أن 88% و 86% من التنوع الجيني الإجمالي في الاصبعية و الفستوقة على التوالي يقع داخل الأفراد وليس بين الأنماط . أظهر تصنيف الأنماط الجينية بناءً على المسافات الجينية بالإضافة إلى تحليل المكونات الرئيسية التمييز الجيني للأنماط الجزائرية من الأصناف. المواد النباتية من أصل جزائري التي تمت دراستها هنا تمثل موردا وراثيا يستحق التطوير في برامج التحسين الوراثي المستقبلية.

الكلمات المفتاحية : الأعشاب المعمرة ، المادة الجافة ، الاستمرارية ، كفاءة استخدام المياه ، التنوع الجيني ، SNP .