



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIC ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
المدرسة الوطنية العليا للفلاحة - الحراش - الجزائر
ÉCOLE NATIONALE SUPERIEURE AGRONOMIQUE - EL HARRACH- ALGER

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

**Etude de l'interaction génotype x milieu et sélection
agronomique et génomique (GWAS) de la luzerne
pérenne (*Medicago sativa* L.)**

Présentée par : M^{me} ACHIR Chahira

Soutenue le : 30 / 06/2022

Devant le jury :

Président : M. LATATI M.

Professeur (ENSA El Harrach)

Directrice de thèse : M^{me} LAOUAR M.

Professeur (ENSA El Harrach)

Co-directeur de thèse : M. ABDELGUERFI A.

Professeur (ENSA El Harrach)

Examineurs : M^{me} TELLAH S.

MCA (ENSA El Harrach)

M. MEBARKIA A.

Professeur (Université de Sétif)

Année Universitaire 2021/2022

*« Le secret de l'agriculture
méditerranéenne réside dans l'association
du ruminant et de la terre qui se réalise
précisément au moyen de la culture
fourragère » Crespo D.G.*

Remerciements

Il m'est agréable d'exprimer ma profonde gratitude à Mme. LAOUAR M. ma directrice de thèse et M. ABDELGUERFI A. mon co-directeur pour leur entière disponibilité, leurs conseils, leurs orientations et leur gentillesse tout au long de ce travail, qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

Je remercie également M. Latati M. d'avoir bien voulu accepté la présidence du jury ; M. Mebarkia A. et Mme. Tellah S. qui m'ont fait l'honneur d'examiner ce travail.

Je remercie tous les collaborateurs scientifiques et techniques :

- Je remercie Pr. **Paolo Annicchiarico** et Pr. **Luciano Pecetti** avec leur équipe de recherche, chercheurs au Council for Agricultural Research and Economics (CREA), Research Centre for Animal Production and Aquaculture, Lodi, Italie, pour leur aide et leur contribution scientifique (**Projet REFORMA-ARIMNet**), ainsi que leurs conseils et leur disponibilité durant mon stage à CREA.
- Pr. M'Hammedi Bouzina M. et M. Khelifi H.E. pour les données PERMED.
- Mes plus vifs remerciements vont particulièrement à tous les étudiants de Master qui ont contribué à l'installation et au suivi des essais sur le terrain : Bentamra Djemaa et Koribaa Imène, Lomri Oussama, Lagoune Hamza, Mahfouf Fadhila et Morso Charazed.
- Je tiens à remercier Farid Deradji (LAIPV) et Safir (Personnel du Département phytotechnie) ainsi que tout le Personnel du Laboratoire de maîtrise de l'eau en agriculture (ENSA) et Ammi Laid (M. BECH)
- Je remercie le personnel de l'AUF-Alger (accès à espace de travail/formations/accès à la bibliothèque en ligne d'AUF scholarvox)

Mes remerciements vont aussi à tous mes collègues : Kadri Adel, Lamia Azzoug, Zenati Malika, Hamzaoui Mounira, Gaad Djoher, Djedid Imène Khadidja, Zatout Fayza, Adami Hafsa, Belboula Hadil.

Je n'oublie pas d'adresser mes remerciements à toute personne qui m'a aidée et contribué de près ou de loin dans ce travail.

ACHIR Chahira

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

À mes très chers parents, le secret de ma force et de ma motivation

À mes adorables sœurs Lila, Ounissa et Ilhem

À mes chers frères Youcef et Mohand Arezki

Qui sont toujours présents pour m'aider

Une dédicace exceptionnelle pour mon petit ange, Adam

À mon bien aimé, mon époux Oualid, et À ma belle-famille

À

toutes les personnes qui ont participé à l'élaboration de ce travail

Achir Chahira

Ce travail a donné lieu à une publication internationale et à trois communications :

Achir, C., Annicchiarico, P., Pecetti, L., Khelifi, H. E., M'Hammedi-Bouzina, M., Abdelguerfi, A., & Laouar, M. (2020). Adaptation patterns of sixteen alfalfa (*Medicago sativa* L.) cultivars across contrasting environments of Algeria and implications for the crop improvement. *Italian Journal of Agronomy*, 15(1), 57-62, DOI : <https://doi.org/10.4081/ija.2020.1578>.

Achir C., Laouar M. and Abdelguerfi A. (26-27 Novembre 2019). La luzerne pérenne (*Medicago sativa* L.) : espèce productive en matière sèche pour l'alimentation animale. Poster présenté au « Congrès International de Valorisation de Bio Ressources: Application et Impact sur le Développement durable » (CIVBAIDD), Université de M'Hamed Bougara, Boumerdès, Algérie, DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.3661344>.

Achir C., Laouar M., Djedid I. and Abdelguerfi A. (05-07 Mai 2018). Evaluation de rendement en matière sèche de 154 génotypes de luzerne pérenne (*Medicago sativa* L.) conduits en pluvial à Alger en deux années d'exploitation. Poster présenté au Congrès International « Rencontres de la Biologie et de l'Agriculture » (RAB), Université de Frères Mentouri, Constantine, Algérie.

Achir C., Laouar M., Djedid I. and Abdelguerfi A. (30 Avril 2018). La luzerne pérenne (*Medicago sativa* L.) : avantages et essais pluriannuels pour création de variétés tolérantes à la sécheresse. Poster présenté au « Séminaire National sur l'Avenir de l'Agriculture et la Transformation des Produits Agricoles en Algérie », Université de Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen, Algérie.

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale..... 1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.	Généralité sur la luzerne pérenne (<i>Medicago sativa</i> L.)	4
	1.1. Taxonomie et Appellation	4
	1.2. Origine et répartition géographique	5
	1.3. Description anatomique et physiologique	6
	1.4. Importance et Intérêts	7
	1.5. Conduite et exigences de la culture	8
	1.6. Maladies	12
	1.7. Exploitation de la luzernière	12
	1.8. Valeur alimentaire	14
II.	Situation des cultures fourragères en Algérie.....	16
	2.1. Problème du déficit fourrager.....	18
	2.2. Répercussions du déficit fourrager	19
	2.3. Solutions du déficit fourrager.....	22
III.	Situation de la culture de luzerne	25
IV.	Mécanisme d'adaptation de la luzerne aux stressés abiotiques (déficit hydrique et à la salinité)	28
	4.1. Déficit hydrique-sècheresse-	29
	4.1.1 Effets du déficit hydrique.....	29
	4.1.2 Mécanisme d'adaptation de plantes au déficit hydrique	29
	4.1.3 Gestion de la sécheresse	31
	4.1.4 Tolérance à la sécheresse chez la luzerne.....	31
	4.2. Salinité.....	33
	4.2.1 Effets de la salinité	33
	4.2.2 Mécanismes d'adaptation à la salinité.....	34
	4.2.3 Gestion de la salinité	34
	4.2.4 Tolérance à la salinité chez la luzerne	34
V.	Interaction génotype x environnement et la notion de la stabilité du génotype	34
	5.1 Interaction génotype x Environnement	34
	5.2 Stabilité du rendement d'un génotype.....	35
VI.	Amélioration génétique de <i>Medicago sativa</i> L.	36
	6.1. Sélection et obtention de variétés synthétiques.....	36
	6.2. Nouvelles méthodes d'amélioration.....	37
	6.2.1. Sélection assistée par marqueurs.....	38
	6.2.2. Sélection génomique	39

	A. SNP.....	40
	B. NGS	40
	C. Génotypage par séquençage (GBS).....	42
	D. Approche GWAS	43
VII.	Semences de luzerne	44
	7.1. Types des variétés commercialisées.....	44
	7.2. Production de semences	46

Chapitre II : Etude de l'Interaction Génotype-Milieu de seize cultivars de luzerne sous deux régimes hydriques (irrigué et pluvial) dans deux sites contrastés (Alger et Hmadna)

	I. Introduction.....	48
	II. Matériels et méthodes	51
	1. Les conditions expérimentales	51
	1.1 Site d'expérimentation	51
	1.2 Conditions pédoclimatiques	51
	2. Matériel végétal utilisé	54
	3. Protocole expérimental.....	55
	4. Analyses statistiques	56
	III. Résultats et Discussion.....	58
	1. Interprétation descriptive des données du rendement selon le régime hydrique et la région.....	58
	2. Modèle AMMI-1	60
	3. Indice AMMI et stabilité du rendement	66
	4. Modèle GGE	67
	4-1 Evaluation des environnements tests	68
	4-2 Evaluation des génotypes (Performance et stabilité génotypique)	70
	4-3 Analyse méga-environnement	72
	IV. Conclusion et perspectives.....	74

Chapitre III : Sélection des cultivars de luzerne adaptés au mode pluvial

	I. Introduction.....	78
	II. Matériel et méthodes	79
	2.1. Matériel végétal.....	79
	2.2. Conditions expérimentales	80
	A. Localisation	80
	B. Caractéristiques édaphiques	81
	C. Caractéristiques climatiques	84
	2.3. Mise en place de l'essai.....	90
	2.4. Caractères notés.....	92
	2.5. Analyses statistiques	93
	2.6. Bouturage	94
	2.7. Mise en place de l'essai de production de semence synthétique Syn1	96
	III. Résultats et discussion	
	3.1 Analyse de variance	97

3.2 Corrélation.....	99
3.3. Sélection.....	100
IV. Conclusion et perspectives.....	103

Chapitre IV : GWAS de quelques caractères d'intérêts chez 154 génotypes obtenus par croisement de trois cultivars élites (Erfoud X Mamuntanas X Sardi 10)

I. Introduction.....	104
II. Matériel et méthodes	
1. Phénotypage	106
2. Génotypage par Séquençage (GBS).....	106
2.1. Protocole du GBS.....	107
2.2. Alignement sur le génome de <i>Medicago truncatula</i>	108
3. Analyses bioinformatiques	108
III. Résultats et Discussion	
1. Nombre de SNPs	108
2. Genome Wide Association Studies (GWAS).....	110
IV. Conclusion et Perspectives.....	115
Conclusion générale et perceptives	116
Références bibliographiques	119

Annexes

Résumé

Abstract

ملخص

Article scientifique

Liste des abréviations

AEA : Axe moyenne-environnement

ACP : Analyse en composantes principales

AMMI : Additive Main effect and Multiplicative Interaction (Modèle d'effets additifs et multiplicatifs)

ANOVA : Analysis of Variance (Analyse de la variance)

ASV : AMMI Stability value (Indice de stabilité AMMI)

CCSPAD1: Contenance en chlorophylle de la première année d'exploitation

CCSPAD2: Contenance en chlorophylle de la deuxième année d'exploitation

CM : Carré moyen

CP : Composante principale

CREA-FLC: Conseil pour la Recherche en Agriculture et en Economie Agraire- Centre pour les cultures fourragères et les productions laitières à Lodi, Italie.

CRISPR / Cas9 GE: Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (courtes répétitions en palindrome regroupées et régulièrement espacées) ; **Cas9** : protéine d'origine bactérienne aux propriétés antivirales; **GE** : Genome editing (édition du génome)

DDL : Degré de liberté

DMY1: Rendement annuel en matière sèche de la première année d'exploitation

DMY2: Rendement annuel en matière sèche de la deuxième année d'exploitation

DMY3: Rendement annuel en matière sèche de la troisième année d'exploitation

DMY : Rendement total en matière sèche

E : Environnement/milieu

FAO: Food and Agriculture Organization

FLOW1: Floraison de la première année d'exploitation

FLOW2: Floraison de la deuxième année d'exploitation

FLOW3: Floraison de la troisième année d'exploitation

FLOW1_2: Floraison moyenne de deux ans (année 1 et 2)

G: Génotype

GBS: Genotyping by sequencing (génotypage par séquençage)

GED : Genotype environment data(données génotype par environnement)

GEI/GE : Interaction génotype X Environnement

GGE: (G + GE) Genotype main effects plus genotype by-environment interaction

GNIS: Groupement National Interprofessionnel des Semences et plants (France)

GWAS: Genome-Wide Association Study (étude d'association pangénomique)

HCDS : Haut-commissariat du développement de la steppe

MADR : Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural

Mbp : Million paire de bases

MET : Multi-environment trials (Essais multi-environnementaux)

MS : Matière sèche

NGS: Next-Generation Sequencing (Séquençage de nouvelle génération)

LFTEMP1: Température foliaire de la première année d'exploitation

LFTEMP2: Température foliaire de la deuxième année d'exploitation

ONIL : Office National Interprofessionnel du Lait

PERSIST: Persistance

PNC : Plan National Climat

QTL : Quantitative Trait Locus (locus de caractère quantitatif)

REFORMA : Resilient, water- and energy-efficient forage and feed crops for Mediterranean agricultural systems (Des cultures annuelles et fourragères résilientes, économes en eau et en énergie pour les systèmes agricoles méditerranéens)

RFI: Random forest imputation

SAT : Surface agricole Totale

SAU : Superficie Agricole Utile

SCE : Somme des carrés des écarts

SRNF : Samuel Roberts Noble Foundation

SVD : singular value decomposition (décomposition en valeurs singulières)

Syn1 : Semence synthétique 1

Syn2 : Semence synthétique 2

TDMY : Rendement total en matière sèche durant les trois ans d'exploitation

TFLOW: Floraison moyenne de trois ans (année 1, 2 et 3)

UF : Unité fourragère

U.F.L : nombre d'Unités Fourragères Lait par kg de matière sèche

U.F.V : nombre d'Unités Fourragères Viande par kg de matière sèche

WINHGT1: Hauteur végétative hivernale de la première année d'exploitation

WINHGT2: Hauteur végétative hivernale de la deuxième année d'exploitation

WINHGT: Hauteur végétative hivernale moyenne

Liste des figures

Figure 1 : A : Morphologie de la luzerne pérenne (*Medicago sativa* L.) (ACTA, 1984), et B : pivot et collet d'un pied de luzerne adulte (Teuber et Brick, 1988).

Figure 2: A Luzerne granulée ou pellet de luzerne, B Luzerne fanée, C Luzerne déshydratée (<http://www.cealpa.es>), et D Cubes de luzerne déshydratée (<https://www.nafosa.es>)

Figure 3: Machine des balles rondes enrubannées et entreposage à proximité de la stabulation (Vignau-Loustau et Huyghe, 2008).

Figure 4: Répartition (en %) de l'offre fourragère par type de fourrage à l'échelle nationale (Merdjane et Yakhlef, 2016)

Figure 5: Bilan fourrager en énergie (UF) au niveau national en année 2012, à partir du tableau 5

Figure 6 : Quantité de lait en poudre importée durant la période 2011-2020 et valeur (FAOSTAT, 2022)

Figure 7 : Quantité de viande bovine à gauche (2011-2020), et viande ovine à droite, importée durant la période 2009-2018 et valeur (FAOSTAT, 2022)

Figure 8 : Quantité de tourteaux de soja importée durant la période 2011-2020 et valeur (FAOSTAT, 2022)

Figure 9 : Evolution des superficies et productions de la luzerne utilisée comme foin sec de 2010 à 2019

Figure 10 : Evolution des superficies et productions de la luzerne et le trèfle utilisés en vert/ensilage de 2010 à 2019

Figure 11 : Evolution des importations de l'Algérie des farines et des granulés de luzernes (pellets) de 2011-2020 (FAO STAT, 2022)

Figure 12 : Schéma de production d'une variété synthétique, dont la génération commerciale est une synthétique 3, voire 4, ayant donc subi 3 ou 4 générations d'intercroisement en polycross : A selon Julier *et al.* (2014) et B selon Gallais (2015).

Figure 13 : Principe du séquençage NGS (Tagu *et al.*, 2018)

Figure 14 : Classification des principales méthodes de génotypage en terme de nombre d'individus à génotyper et de nombre de marqueurs (Falque, 2011).

Figure 15 : Principe de l'approche GWAS (Tagu *et al.*, 2018).

Figure 16: Températures mensuelles moyennes et précipitations mensuelles (Diagrammes Ombrothermiques) des 4 années d'expérimentation 2004-2008 du site d'Alger.

Figure 17: Températures mensuelles moyennes et précipitations mensuelles (Diagrammes Ombrothermiques) des 4 années d'expérimentation 2004-2008 du site de Hmadna.

Figure 18: Rendement nominal de seize cultivars de luzerne en fonction du score CP1 (CP1 = 70,7% de la variation totale GEI). Les génotypes sont nommés de G1 à G16 et les environnements d'E1 to E4 (voir les tableaux 14 et 15).

Figure 19: Biplot AMMI-1 à un seul axe CP1=70,7%, par rapport au rendement moyen en matière sèche des 16 cultivars durant 4 ans de suivis. Les génotypes sont nommés de G1 à G16 et les environnements d'E1 to E4 (voir les tableaux 14 et 15).

Figure 20: Plot de la variation du rendement moyen en matière sèche des 16 génotypes par rapport aux 4 environnements. Les génotypes sont nommés de G1 à G16 et les environnements d'E1 to E4 (voir les tableaux 14 et 15).

Figure 21: Plot de la variation du rendement moyen en matière sèche des 4 environnements par rapport aux 16 génotypes. Les génotypes sont nommés de G1 à G16 et les environnements d'E1 to E4 (voir les tableaux 14 et 15).

Figure 22 : GGE biplot représentant le classement des environnements en fonction de la représentativité et la capacité discriminante, à $G + GE = 92,5\%$. Les génotypes sont nommés de G1 à G16 et les environnements d'E1 to E4 (voir les tableaux 14 et 15).

Figure 23 : GGE biplot de la performance et stabilité génotypique, avec $CP1+CP2= 92,5\%$ du total $G + GE$. Les génotypes sont nommés de G1 à G16 et les environnements d'E1 to E4 (voir les tableaux 14 et 15).

Figure 24 : GGE-biplot "which-won-where=qui a gagné où", représentant les génotypes supérieurs pour chaque environnement test expliquant 92,5% du total $G+GE$. Les génotypes sont nommés de G1 à G16 et les environnements d'E1 to E4 (voir les tableaux 14 et 15).

Figure 25 : Schéma de la procédure de sélection de l'échantillon parental

Figure 26: Photographie aérienne du site expérimental (Google Earth, 2017)

Figure 27: Diagramme Ombrothermique avec coïncidence des coupes pour la campagne 2013/2014

Figure 28: Diagramme Ombrothermique avec coïncidence des coupes pour la campagne 2014/2015

Figure 29: Diagramme Ombrothermique avec coïncidence des coupes pour la campagne 2015/2016

Figure 30: Diagramme Ombrothermique avec coïncidence des coupes pour la campagne 2016/2017

Figure 31: Diagramme Ombrothermique avec coïncidence des coupes pour la campagne 2017/2018

Figure 32: Dispositif expérimental alpha-lattice

Figure 33 : Transplantation des plants de luzerne en plein champs suivant le dispositif alpha-lattice (Bentamra et Koribaa, 2014).

Figure 34: Protocole de bouturage de luzerne.

Figure 35: Corrélation des 9 caractères significatifs.

Figure 36: Plants de luzerne transplantés à gauche, et leur reprise et floraison à droite (Morso, 2019)

Figure 37 : Étapes de la construction d'une banque GBS (Elshire *et al.*, 2011, adaptée par Tagu *et al.*, 2018)

Figure 38 : Nombre de marqueurs SNP pour différents seuils de données manquantes de génotype pour les génotypes de luzerne étudiés

Figure 39: Association (graphique de Manhattan) de marqueurs SNPs alignés sur le génome de référence *M. truncatula* Mt4.0v1 avec le rendement en matière sèche, *: chromosome fictif groupant les SNPs non-alignés. Ligne noire (positionné à 3.0) indique le seuil minimum pour sélectionner un SNP significatif (tableau 28).

Figure 40: Association (graphique de Manhattan) de marqueurs SNPs alignés sur le génome de référence *M. truncatula* Mt4.0v1 avec la hauteur végétative hivernale, *: chromosome fictif groupant les SNPs non-alignés. Ligne noire (positionné à 3.0) indique le seuil minimum pour sélectionner un SNP significatif (tableau 28).

Figure 41: Association (graphique de Manhattan) de marqueurs SNPs alignés sur le génome de référence *M. truncatula* Mt4.0v1 avec la floraison, *: chromosome fictif groupant les SNPs non-alignés. Ligne noire (positionné à 3.0) indique le seuil minimum pour sélectionner un SNP significatif (tableau 28).

Liste des tableaux

Tableau 1 : Résumé des différences entre 3 espèces du complexe *Medicago sativa*, (Quiros et Bauchan, 1988 ; Mauriès, 2003 ; Small, 2010)

Tableau 2 : Stades physiologiques de la luzerne (Mauriès, 1994 ; Noziere *et al.*, 2018)

Tableau 3 : Exigences de la culture de luzerne (Marble, 1993 ; Mauriès, 1994 ; Abdelguerfi et Laouar, 2002 ; Melis *et al.*, 2017)

Tableau 4 : Table de la valeur alimentaire de la luzerne de l'INRA France (GNIS, 2020)

Tableau 5 : Surface fourragère, Types de fourrages et Bilan fourrager en UF en 2012 selon Merdjane et Yakhlef (2016)

Tableau 6 : Structure des systèmes d'élevage en Algérie (Makhlouf *et al.* 2015).

Tableau 7 : Importation de produits d'origine animale et des tourteaux de soja durant la période 2011-2020 (FAOSTAT, 2022)

Tableau 8 : Superficie Agricole utile, superficies et productions de différents types de fourrages en Algérie (MADR, 2019)

Tableau 9 : Superficie, production et rendement de la luzerne en sec (foin) en Algérie entre 2010-2019 (MADR, 2019)

Tableau 10 : Superficie, production et rendement de la luzerne en vert/ensilée avec le trèfle en Algérie entre 2010-2019 (MADR, 2019)

Tableau 11 : Gènes responsables de la tolérance à la sécheresse/salinité de la luzerne (*Medicago sativa*), par approche transgénique

Tableau 12 : Variétés recommandées pour le milieu méditerranéen (Melis *et al.*, 2017)

Tableau 13 : Caractères pédoclimatiques moyenne sur une durée de quatre années des deux sites d'études (Alger et H'madna)

Tableau 14 : Code, nom de cultivar, pays d'origine et caractéristiques de seize génotypes de luzerne pérenne étudiés en Algérie.

Tableau 15 : Les rendements moyens en matière sèche en t ha⁻¹ des 16 cultivars de luzerne dans les 4 environnements étudiés

Tableau 16 : Analyse de la variance du rendement en matière sèche total des quatre années de 16 cultivars de luzerne cultivés dans quatre environnements algériens. Interaction génotype × environnement (GEI) analysée par le modèle multiplicatif AMMI.

Tableau 17: Signification de chaque axe des ACP dans l'analyse par le modèle multiplicatif AMMI.

Tableau 18: Rendement total moyen en matière sèche (DMY) de 16 cultivars de luzerne dans quatre environnements d'évaluation, et classement des cultivars selon l'indice de stabilité AMMI (ASV), (Les valeurs moyennes de DMY suivies de lettres selon la différence la moins significative (LSD) à $P = 0,05$).

Tableau 19: Signification de chaque axe des ACP dans l'analyse GGE

Tableau 20 : Trois types d'environnements test basés sur l'évaluation des environnements (Yan *et al.*, 2007), avec projection des 4 environnements testés dans notre étude.

Tableau 21: Caractéristiques physicochimiques de la parcelle avant l'installation de la luzernière et à la 3^{ème} année d'installation.

Tableau 22: Caractéristiques climatiques durant la conduite de l'essai

Tableau 23: Date, durée et fréquence d'irrigation appliquée à la luzernière durant les deux années d'installation (2013-2014 et 2014-2015)

Tableau 24 : Données sur le total des 23 fauches réalisées durant toute la période du développement de la luzerne (5 années)

Tableau 25: Récapitulatif des résultats de l'analyse de la variance de tous les caractères étudiés.

Tableau 26: Comparaisons entre les différents géotypes sélectionnés en Italie (Lodi), au Maroc (Marrakech) et en Algérie (Alger), selon leur performance en rendement cumulé en matière sèche et en persistance

Tableau 27: Numéro du chromosome, position et score d'association des marqueurs (SNPs) liés au rendement total en matière sèche, à la hauteur hivernale et début de la floraison en considérant le seuil de 3,0 comme score d'association significatif.

Introduction générale

L'Algérie figure parmi les pays à fort risque de changement climatique et elle est particulièrement affectée par la désertification et la dégradation des sols ; d'ailleurs, les zones qui reçoivent plus de 400 mm de pluie par an se limitent seulement à une bande d'un maximum de 150 km de profondeur à partir du littoral. Par conséquent, le climat se modifie fortement du Nord au Sud et passe d'une tonalité méditerranéenne humide à un milieu désertique et sec en transitant par un climat semi-aride (PNC, 2019). De plus, la variabilité du climat constitue un sérieux défi, pour la population, qui peut accroître l'insécurité alimentaire et freiner le développement socio-économique du pays (PNC, 2019). Par conséquent, l'agriculture algérienne fait face à un défi majeur lié à l'amélioration de la souveraineté alimentaire du pays, en développant durablement sa capacité de production dans un contexte de tension sur les ressources naturelles tout en s'adaptant au changement climatique ; hors, l'Algérie est aujourd'hui fortement dépendante de ses moyens de paiements extérieurs pour assurer ses approvisionnements alimentaires, d'où l'urgence du développement des secteurs agricoles, en accordant à la recherche agronomique une place privilégiée (Bessaoud *et al.*, 2019).

En Algérie, les cultures fourragères occupent une place marginale au niveau des productions végétales (Abdelguerfi *et al.*, 2008). En effet, les fourrages se caractérisent par leurs superficies réduites, la diversité de ces espèces très limitée avec domination des cultures fourragères de réserves (vesce-avoine, orge et avoine) et, enfin, l'absence de la production de semences qui constitue un véritable frein (Abdelguerfi et Laouar, 2002).

De plus, la dégradation des sols est accélérée par des pratiques agricoles comme la jachère travaillée qui accentue l'érosion tout en entraînant l'exclusion de l'élevage (Abbas et Abdelguerfi, 2005) et cela malgré les politiques agricoles, depuis l'indépendance, qui ont toujours visé le remplacement de la jachère par des cultures, particulièrement des fourrages et des légumes secs (Abbas et Abdelguerfi, 2005). Malheureusement, la jachère continue à occuper 33,26% de la SAU en 2019 (Statistique Agricole MADR, 2019). Et donc, la « révolution fourragère » consistant à remplacer la jachère par les cultures fourragères (particulièrement des légumineuses), connue en Europe, ne semble pas s'être produite au Maghreb à cause d'une faiblesse de vulgarisation de techniques alternatives et de l'incapacité financière des agriculteurs (Abdelguerfi et Laouar, 2002).

Les conséquences de déficit fourrager se répercutent directement sur le cheptel qui est sous-alimenté et les conséquences se manifestent à travers les faibles productions animales et en particulier la production laitière (Abdelguerfi *et al.*, 2008). Ainsi donc, le développement durable de la filière bovin laitier en Algérie est conditionné par la maîtrise des systèmes fourragers (Ouarfli et Chehma, 2011).

Le genre *Medicago* est économiquement important pour la société principalement en raison de l'une de ses espèces vivaces qui est la luzerne pérenne (*Medicago sativa* L.) ; connue comme la reine des fourragères, et qui représente la quatrième culture la plus importante en Amérique du Nord (après le maïs, le soja et le blé, respectivement) (Small, 2010). La luzerne a une très longue histoire de culture (Michaud *et al.*, 1988) et elle est la principale légumineuse fourragère vivace dans la plupart des régions tempérées (Annicchiarico *et al.*, 2015).

Cette espèce fourragère est essentielle dans l'alimentation des ruminants, en particulier pour les vaches laitières, mais elle est également utilisée pour les petits ruminants et les chevaux (Melis *et al.*, 2017). De plus, c'est une culture efficace du point de vue énergétique grâce à sa fixation biologique de l'azote, et la réduction de l'application d'azote qui la rend une culture écologique (Ballesta et Lloveras, 2010). Ainsi, l'adoption de la luzerne comme culture fourragère pourrait améliorer la durabilité économique et environnementale des systèmes culture-élevage dans le bassin méditerranéen (Annicchiarico *et al.*, 2011).

Cependant, malgré le potentiel de la luzerne, la superficie consacrée en Algérie à cette culture est très limitée (Chedjerat *et al.*, 2016). Selon les statistiques du MADR (2019), l'Algérie ne produit que 215 884,7 tonnes de luzerne (foin sec) sur une superficie de 8 879 hectares en 2019, alors qu'en vert ou en ensilage, la production, de la luzerne et du trèfle ensemble, est de 460 085,6 tonnes sur une superficie de 18 709 ha. En parallèle, le cheptel ne cesse d'accroître et est estimé selon les statistiques les plus récentes du MADR (2019) à 36 663 487 têtes (bovin, ovin, caprin, camelin et équine) dont 932 875 têtes sont des bovins laitiers.

Devant ce déficit fourrager chronique en Algérie et l'ensemble des avantages de la luzerne, peut-on encore négliger la reine des fourragères dans nos systèmes fourragers ?

Il est donc primordial d'augmenter la superficie cultivée de luzerne pérenne en Algérie, pas seulement dans les périmètres irrigués où les intrants sont importants, mais aussi sous des conditions pluviales assurant un développement durable et protégeant plus l'environnement.

Cela, ne peut être possible que si la création variétale sera en mesure de faire face aux défis croissants auxquels la culture de luzerne sera confrontée, particulièrement celui de la rareté de l'eau.

Le travail de cette thèse a porté sur l'étude de la luzerne pérenne. L'objectif principal étant la sélection de génotypes à potentiel génétique répondant aux besoins climatiques Algériens. Différentes approches de sélections et différents types de matériels génétiques ont été utilisés dans cette recherche qui est un résultat de collaboration avec des partenaires méditerranéens de la rive Sud et Nord de la Méditerranée. En effet, deux projets de deux programmes différents à savoir PERMED (INCO-CT-2004-08, PL509140) et ARIMNet (PF7-UE-REFORMA) sont la source de financement de ce travail.

Pour illustrer au mieux cette recherche, quatre (4) chapitres ont été rédigés :

- Le premier chapitre constitue une synthèse bibliographique qui décrit la luzerne pérenne (*Medicago sativa* L.), ses exigences et ses intérêts, ainsi que son importance fourragère, ensuite l'effet du déficit hydrique et de la salinité sur la luzerne est abordé. A la fin, une synthèse sur la sélection génétique de la luzerne suivant les méthodes anciennes et modernes pour la production de semences est élaborée ;
- Le deuxième chapitre décrit la première expérimentation qui porte sur l'étude de l'Interaction Génotype-Milieu de seize cultivars de luzerne installés sous deux régimes hydriques, irrigué et pluvial, dans deux sites El Harrach (Alger) et H'Madna (Relizane), ainsi les détails de l'expérimentation, résultats et discussion sont apportés ;
- Le troisième chapitre décrit la deuxième expérimentation portant sur la sélection de cultivars de luzerne adaptés au mode pluvial sous le climat subhumide d'Alger et la production d'une variété synthétique Syn 1 à partir des meilleurs génotypes parmi les 154 étudiés ;
- Le quatrième chapitre porte sur les résultats de la sélection génomique et de l'approche GWAS (Genome Wide Association Study -étude d'association pangénomique-) de quelques caractères d'intérêts (rendement en matière sèche et floraison) évalués chez les mêmes progénies de luzerne dans le chapitre précédent.

Enfin, le manuscrit est finalisé par une conclusion générale et des propositions sur les perspectives à venir.

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I. Généralité sur la luzerne pérenne (*Medicago sativa* L.)

1.1. Taxonomie et Appellation

La luzerne est une légumineuse appartenant à la famille des Fabacées d'après **Quézel et Santa (1962)**, l'espèce est classée comme suite :

- Embranchement : Spermaphytes.
- Sous-embranchement : Angiospermes.
- Classe : Dicotylédones.
- Sous-classe : Dialypétales.
- Ordre : Rosales.
- Famille : Fabacées.
- Sous-famille : Papilionacées.
- Tribu : Trifoliées.
- Genre : *Medicago*.
- Espèce : *Medicago sativa* L.

La luzerne a connu plusieurs appellations, les Grecs l'appelaient «medicai», les Romains «medica», en Italie, elle est appelée encore «erba medica» et les vieux noms iraniens qui signifient luzerne sont «uspust», «aspest» ou «ifist», qui ont subi des modifications phonétiques au contact de la langue arabe pour aboutir au nom «alfalfa». Les Arabes diffusèrent la nouvelle appellation en Afrique du Nord et en Espagne et aujourd'hui, elle est appelée « alfalfa » ou « luzerne » (Marble, 1993).

Le nombre génomique de base du genre *Medicago* est $x = 8$, avec trois niveaux de ploïdie : diploïdes $2n = 2x = 14$ et $2n = 2x = 16$, tétraploïdes ($2n = 4x = 32$) et hexaploïdes $2n = 6x = 48$. La plupart des espèces pérennes sont allogames, avec différents degrés d'auto-incompatibilité (Quiros et Bauchan, 1988).

Le complexe *Medicago sativa* est divisé en trois sous-espèces (Tableau 1) qui sont : (i) *M. sativa* ssp. *sativa*, caractérisée par des fleurs violettes, une racine pivotante, un port dressé, et des gousses spiralées, et qui contient la forme tétraploïde et la forme diploïde ; (ii) *M. sativa* ssp. *falcata* caractérisée par des fleurs jaunes, des racines fasciculées, un port étalé, et des gousses droites en forme de faucille, et qui contient les deux formes tétraploïde et diploïde ; et enfin, (iii) *M. sativa* ssp. *glutinosa* qui ne contient que la forme tétraploïde. La sous-espèce la plus communément cultivée est le *M. sativa* ssp. *sativa* (allotétraploïde), mais la sous-espèce *falcata* est également cultivée, de manière limitée.

Cependant l'étude la plus récente de Şakiroğlu et İlhan (2020), basée sur les outils moléculaires, a révélé d'autres sous-espèces de plus que celles indiquées dans le Tableau 1, à savoir : *M. sativa* ssp. *x hémicycla* (diploïde à fleurs panachées et gousses semi-enroulées) ; *M. sativa* ssp. *x varia* (tétraploïde à fleurs panachées et gousses semi-enroulées) et enfin *M. sativa* ssp. *glomerata* (tétraploïde à fleurs jaunes et gousses enroulées).

Tableau 1 : Résumé des différences entre les sous-espèces du complexe *Medicago sativa*, (Quiros et Bauchan, 1988 ; Mauriès, 2003 ; Small, 2010)

Complexe <i>Medicago sativa</i>			
	<i>M. sativa</i> ssp. <i>Sativa</i>	<i>M. sativa</i> ssp. <i>falcata</i>	<i>M. sativa</i> ssp. <i>glutinosa</i>
Distribution	Couvre un vaste territoire, y compris : la Méditerranée, le Proche et Moyen-Orient, le Caucase, l'Asie centrale et méridionale	Le sud de l'Allemagne à l'ouest jusqu'à la Sibérie à l'est, de la côte bulgare de la mer Noire au sud à Leningrad au nord	Régions subalpines du Caucase, le long des vallées fluviales
Adaptation	Adapté aux régions tempérées au-dessous de 92 ° N L.	Bien adapté aux régions froides	Adapté aux régions humides
Ploïdie	Diploïde (<i>M. sativa</i> ssp. <i>caerulea</i>) et tétraploïde (<i>M. sativa</i> ssp. <i>sativa</i>)	Diploïde et tétraploïde	Tétraploïde
Couleur de la fleur	Violet	Jaune	Corolle jaune vif ou crème au stade du bourgeon passant au jaune après ouverture
Forme de la gousse et graine	Gousses Spirales Graines réniformes	Gousses droites à en forme de faucille Graines arrondies	Spiralé avec des poils glandulaires
Racine et port	Racine pivotante Port dressé	Racines fasciculées Port étalé	

1.2. Origine et répartition géographique

Medicago est un genre d'origine eurasienne, mais les distributions de fréquences de ses espèces indiquent qu'il est le plus diversifié dans la zone de la mer Méditerranée (Small, 2010). Donc, la côte nord de la Méditerranée semble la zone d'origine des espèces pérennes en fonction de leur aire de répartition actuelle (Quiros et Bauchan, 1988).

Les sous-espèces *M. sativa* ssp. *sativa* proviennent des zones sèches où ils survivent bien grâce à leur enracinement profond, tandis que les sous-espèces *M. sativa* ssp. *falcata* viennent de Sibérie occidentale d'où ils ont gagné la Russie et la Scandinavie, et ensuite le reste de l'Europe et ils possèdent une remarquable résistance au froid et aux maladies (Marble, 1993), mais ils produisent moins de rendement et moins de graines que les types *M. sativa* (Mauriès, 1994).

La luzerne *M. sativa* est la plus cultivée des légumineuses fourragères (Small, 2010), et la plus répandue sur tous les continents, sa culture remonte à plus de 9 000 ans (Mauriès, 2003).

Selon Marble (1993), la variété française « Provence » est reconnue comme responsable de l'introduction de la luzerne en Australie, en Nouvelle-Zélande et en Afrique de Sud ; les variétés allemandes « Franconie ou Grimm » ont contribué à l'expansion de la luzerne dans le nord des Etats-Unis et au Canada ; et enfin, même les types à fleurs pourpres de l'Asie centrale et de l'Iran semblent à l'origine des luzernes cultivées aujourd'hui dans tous les pays du Proche-Orient.

1.3. Description anatomique et physiologique

La luzerne développe une racine pivotante principale et des racines secondaires plus ou moins ramifiées (Figure 1). Les tiges se composent de tiges primaires, secondaires et tertiaires, et leur nombre augmente avec l'âge de la plante, ainsi que leur repousse est assurée grâce aux bourgeons axillaires. Les feuilles sont, en général, de type trifolié mais il existe des variétés dites multi-foliées à 4, 5, 6 ou 7 folioles portées par un pétiole. Les fruits sont des gousses enroulées spiralées et contiennent plusieurs graines réniformes. La luzerne est allogame, c'est-à-dire que la fécondation d'une fleur est surtout réalisée par du pollen d'une autre plante grâce aux insectes qui permettent la pollinisation. Les fleurs sont hermaphrodites, elles sont regroupées en inflorescences de 15 à 30 fleurs de couleur violette, elles apparaissent entre le 6^{ème} et le 14^{ème} entre-nœud en fonction des conditions du milieu et de leur déterminisme génétique (Mauriès, 1994).

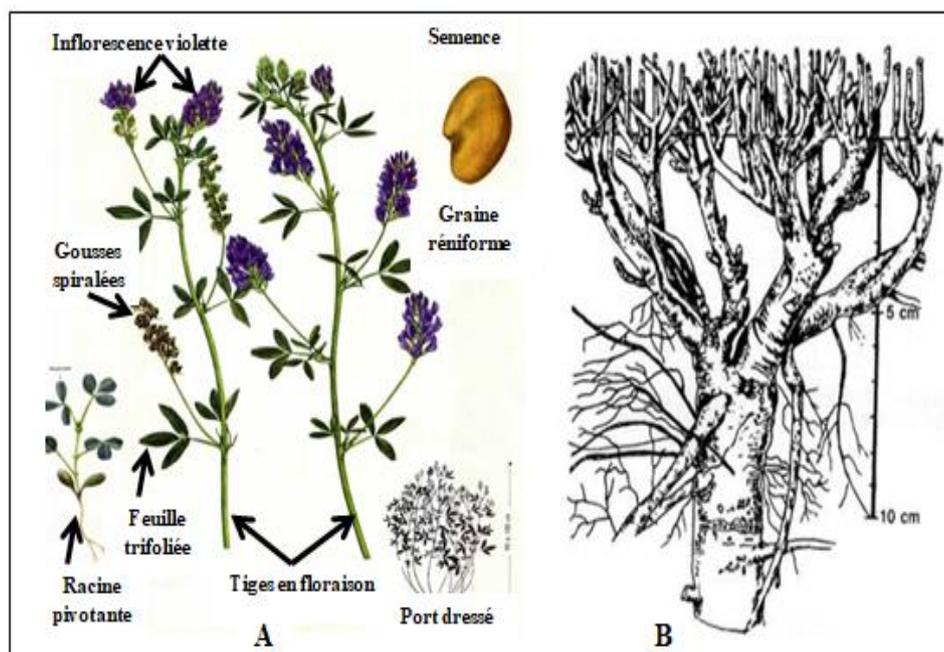


Figure 1 : A : Morphologie de la luzerne pérenne (*Medicago sativa* L.) (ACTA, 1984), et B : pivot et collet d'un pied de luzerne adulte (Teuber et Brick, 1988).

Kalu et Fick (1981) ont développé une classification plus précise des différents stades physiologiques de la luzerne, et ont décrit 10 stades qui se compose de : trois stades végétatifs caractérisés par l'absence de boutons floraux et différenciés par la longueur de la tige (stade 0 : < 15 cm, stade 1 : 16 à 30 cm et stade 2 : > 31 cm) ; deux stades de bourgeonnement caractérisés par la présence des boutons floraux (stade 3 : 1 à 2 nœuds avec boutons floraux, stade 4 : plus de 3 nœuds avec boutons floraux) ; deux stades de floraison caractérisés par la présence de fleurs (stade 5 : 1 nœud avec une fleur ouverte ; stade 6 : plus de 2 nœuds avec fleurs ouvertes) et trois stades de gousses (stade 7 : 1 à 3 nœuds avec gousses vertes ; stade 8 : 4 nœuds ou plus avec gousses vertes ; stade 9 : des nœuds avec des gousses mûres et brunes).

Selon Mauriès (1994) et Nozière *et al.* (2018), les stades physiologiques de la luzerne sont déterminés selon la présence ou absence des boutons floraux ainsi que leurs états fermés ou ouverts, les stades sont nommés : végétatif, début bourgeonnement, bourgeonnement, début floraison et floraison (Tableau 2).

Tableau 2 : Stades physiologiques de la luzerne (Mauriès, 1994 ; Nozière *et al.*, 2018)

Stade	Description
Végétatif	Absence de floraison ou absence totale de boutons floraux
Début bourgeonnement	Apparition de 4 boutons floraux sur 20 tiges cueillies au hasard, soit un taux moyen de 25%, ou de 5 à 10% des tiges examinées sur une ligne de 1 mètre ont des boutons floraux à leur extrémité
Bourgeonnement	Sur 20 tiges cueillies au hasard, 16 ont des boutons floraux à leur extrémité, soit un taux moyen de 80%, ou 50% des tiges examinées sur une ligne de 1 mètre ont des boutons floraux à leur extrémité
Début floraison	Sur 20 tiges cueillies au hasard, 10 présentent un liseré violet, soit un taux moyen de 50%, ou de 5 à 10% des tiges examinées sur une ligne de 1 mètre ont au moins une fleur épanouie
Floraison	Sur 20 tiges cueillies au hasard, 16 ont des fleurs épanouies, soit un taux moyen de 80%

1.4. Importance et Intérêts

La luzerne possède de nombreux avantages agronomiques (pérennité, rusticité, production estivale, économie d'intrants) et zootechniques (richesse en protéines, richesse en substances minérales, forte ingestibilité) (Guines, 2002). La luzerne est une culture respectueuse de l'environnement et d'un grand potentiel pour rendre l'agriculture plus compatible avec l'objectif actuel à savoir celui de minimiser les impacts écologiques négatifs (Small, 2010).

La luzerne souvent appelée « reine des fourrages » connue comme :

- Culture agronomique largement adaptée (Barne *et al.*, 1988) ;

- Source efficace de fixation biologique de l'azote atmosphérique (560 kg par hectare et par an) grâce aux bactéries symbiotiques (*Sinorhizobium meliloti*) logées dans ses nodules racinaires, de ce fait, la luzerne est largement utilisée dans la rotation des cultures (Barne *et al.*, 1988 ; Small, 2010 ; Melis *et al.*, 2017) ;
- Culture économe en énergie : En plus qu'elle nécessite peu ou pas de fertilisation azotée (Annicchiarico *et al.*, 2015), elle est cultivée pendant plusieurs années sans réensemencement, donc le travail du sol est réduit (Barne *et al.*, 1988 ; Small, 2010) ;
- Culture qui lutte contre l'érosion, grâce au vaste système racinaire vivace et la couverture permanente du sol, et améliore la stabilité structurale du sol (Lery, 1982 ; Abdelguerfi et Laouar, 2002), de plus, elle peut laisser dans le sol 6 à 8 t de racines par hectare ce qui correspond à 10 t de fumier par hectare (Villax, 1963) ;
- Largement utilisée dans la rotation des cultures pour, entre autre, son rôle important dans la rupture des cycles de maladies (Lery, 1982 ; Small, 2010 ; Melis *et al.*, 2017) ;
- En plantations mixtes, elle sert à améliorer les parcours/prairies à faible entretien pour le pâturage du bétail (Small, 2010) ;
- Source complète d'éléments nutritifs (riche en vitamines, minéraux et protéines) pour la production animale en quantité et en qualité (lait, viande, laine, œufs...) (Lery, 1982 ; Marble, 1993 ; Small, 2010) ;
- La culture en pure garantit un fourrage à haute teneur en protéines (Annicchiarico *et al.*, 2015) ; et elle est considérée comme la source de protéines la plus efficace des régions tempérées car elle contient généralement 15% à 22% de protéines (Small, 2010).
- Présente une source attractive de nectar pour les abeilles (Barne *et al.*, 1988 ; Mauriès, 1994 ; Melis *et al.*, 2017) ;
- Source d'extraits (compléments protéiques) alimentaires humains, de produits pharmaceutiques, d'enzymes, de produits chimiques industriels et de biocarburants (Small, 2010).

1.5. Conduite et exigences de la culture

A. Exigences pédoclimatiques

La luzerne est une espèce polymorphe, adaptée à de nombreux sols et climats (Rumbaugh *et al.*, 1988), elle résiste au froid, mais elle est sensible aux basses températures au début de son développement (Aït-Abdallah-Djennadi *et al.*, 2010). Selon Mauriès (1994), la germination se produit entre 2 et 40 °C, avec un optimum de 19 à 25 °C ; la croissance des jeunes plantes est rapide entre 20 et 30 °C puis diminue à 15-20 °C chez les plantes âgées, mais elle est fortement réduite en

dessous de 10 °C et au-delà de 37 °C ; et la plante peut fixer de l'azote atmosphérique entre 15 et 27 °C puis au-delà de 30 °C, le fonctionnement des nodosités est fortement affecté.

En effet, la luzerne peut s'adapter à de nombreux types de sol mais elle tolère mal les sols acides (pH inférieur à 5), à cause de la présence de l'aluminium et le manganèse qui sont toxiques, ainsi que les sols hydromorphes. La luzerne apprécie les sols profonds et bien drainés qui lui permettent de développer son enracinement pivotant qui peut atteindre 3 à 5 m si les racines ne sont pas gênées par la présence d'accumulations salines (Marble, 1993 ; Mauriès, 1994 ; Melis *et al.*, 2017).

En pluvial, la luzerne exige une pluviométrie de 350 mm à 600 mm (Aït-Abdallah-Djennadi *et al.*, 2010). Alors qu'en irrigué, les besoins en eau sont d'environ 14 000 m³ par hectare dans les environnements méditerranéens subissant une sécheresse et il est conseillé d'irriguer surtout en début de végétation après la coupe pour stimuler la croissance (Melis *et al.*, 2017).

B. Exigences en Fertilisation

Habituellement, c'est le phosphore (P) qui est l'élément nutritif le plus important pour la luzerne (Marble, 1993). D'ailleurs, la fertilisation durant l'installation est recommandée, et une légère fertilisation azotée (20-30 kg ha⁻¹) peut être utile pour faciliter l'installation alors que la symbiose ne fonctionne pas encore (Melis *et al.*, 2017). De plus, la fumure d'entretien doit être apportée à la dernière coupe automnale (Marble, 1993 ; Abdelguerfi et Laouar, 2002).

Les exigences de la culture de luzerne sont représentées au niveau du Tableau 3.

Tableau 3 : Exigences de la culture de luzerne (Marble, 1993 ; Mauriès, 1994 ; Abdelguerfi et Laouar, 2002 ; Melis *et al.*, 2017)

Fumure de fond	100 à 180 kg de P ₂ O ₅ /ha ; 200 à 300 kg de K ₂ O/ha
Labour	20 à 30 cm
Temps Semis	Automne : août-novembre Printemps : mars-avril
Dose de semis	20 à 30 kg dans les bonnes conditions ; 35-45 kg/ha dans les conditions défavorables (sol lourd, mauvais lit de semence)
Profondeur de semis	1 à 2 cm
Fumure entretien	120 à 160 kg de P ₂ O ₅ /ha ; 50 à 300 kg de K ₂ O/ha
Irrigation	Besoins en eau 14 000 m ³
pH du sol	Optimum : 6 -7,5
Températures °C	Température nocturne (°C) Minimum : -2 à -5 ; Optimum : 10-20 Température diurne (°C) Minimum : 5 ; Optimum : 15-25 ; Maximum : 35-40

C. Mise en culture

On peut souvent s'en passer du labour quand une plantation de luzerne fait suite à une culture céréalière, un bon lit de semence peut être alors préparé rapidement, à bas prix, à la déchaumeuse ou à la herse (Marble, 1993).

Un épandage préalable avant l'installation de la culture d'un herbicide total pour le désherbage grossier est utile (Marble, 1993). Sinon, une coupe de nettoyage précoce (faite avant que les adventices produisent des graines) doit être suffisante pour nettoyer la culture ; par ailleurs, le contrôle des adventices est plus facile avec une association qu'avec une culture pure car les plantes génèrent une concurrence sévère aux adventices (Melis *et al.*, 2017).

Le semis peut se faire d'août à novembre dans les régions côtières du Maghreb à hiver doux, et dans les régions à hiver froid, le semis se fait en septembre-octobre, de plus la luzerne peut être cultivée aussi au printemps mais en conditions d'humidité favorables pour un bon enracinement de la luzerne avant la sécheresse estivale (Abdelguerfi et Laouar, 2002). Cependant, les semis d'automne offrent une germination très rapide et un développement d'un système racinaire plus profond, susceptible d'éviter la perte du peuplement l'été suivant (Marble, 1993).

L'inoculation peut être exigée dans les sols mis en culture pour la première fois, ainsi que ceux ayant un pH en-dessous de 6,2, et ceci par l'utilisation des semences enrobée du rhizobium (Melis *et al.*, 2017).

D. La luzerne en association

Grâce à la complémentarité des caractéristiques de fonctionnement des graminées et des légumineuses en termes de croissance, de production et de qualité (Maamouri, 2014), la luzerne peut être cultivée en association avec les graminées fourragères pérennes résistantes à la sécheresse, telles que la fétuque élevée (*Festuca arundinacea*) et le dactyle (*Dactylis glomerata*), avec des doses de semis de 10-20 kg ha⁻¹ de luzerne et 15-20 kg ha⁻¹ de graminées (Melis *et al.*, 2017).

Cultiver en association de la luzerne et une graminée semble présenter de nombreux avantages tant sur le plan agronomique que environnemental et qui sont prouvés par plusieurs travaux de recherche, comme suit :

- Meilleure occupation des sols, ainsi qu'une production et qualité meilleure du fourrage récolté (Lebois *et al.*, 2008), surtout lorsque la luzerne est ensemencée dans des prairies semi-arides, elle améliore considérablement la valeur nutritive fourragère de ces prairies, ce qui conduirait à une utilisation des terres et à des systèmes de production de viande bovine plus durables (Dhakal *et al.*, 2020) ;

- Les mélanges à base de légumineuses peuvent augmenter ou stabiliser la production agricole (Annicchiarico *et al.*, 2019) ;
- Zoghلامي *et al.* (1995) ont noté que la luzerne en association avec le dactyle permet un étalement de la production qui est supérieure durant une partie de l'été, saison où les ressources fourragères sont peu abondantes ;
- Les associations contrôlent plus facilement des adventices, par rapport à une culture pure, parce que le sol est toujours couvert et les plantes génèrent une concurrence sévère aux adventices (Melis *et al.*, 2017), et l'efficacité de cette lutte est surtout observée lors de l'année d'implantation (Lebois *et al.*, 2008) ;
- La luzerne associée avec les graminées pérennes fournissent une alimentation adéquate pour les animaux très productifs, avec peu de supplémentation en protéines (Annicchiarico *et al.*, 2015), car le fourrage produit est bien équilibré en protéines (légumineuse) et en énergie (graminée) (Julier *et al.*, 2014), ce qui réduit le risque de météorisation chez les ruminants au pâturage (Melis *et al.*, 2017). De plus, la luzerne permettrait un meilleur équilibre nutritif du fourrage en procurant davantage d'énergie dans la ration, tandis que la graminée faciliterait la conservation par ensilage et permettrait de réduire les quantités de conservateur à ajouter pour la confection des ensilages dans les silos (Lavoinne et Pérès, 1993) ;
- Lavoinne et Pérès (1993) ont trouvé qu'au même niveau de fumure azotée, la production de matière sèche est meilleure avec les associations qu'avec les graminées pures et cela est plus marqué en année à été sec que celle à été humide ;
- Selon les résultats d'expérimentation de Lavoinne et Pérès (1993) sur les associations de luzerne avec différentes graminées pérennes, ils ont noté qu'à la fin de la troisième année de récolte, l'association avec brome reste bien équilibrée, ce qui représente une très bonne faculté d'association, alors que la luzerne a totalement disparue dans les associations avec dactyle et fétuque ;
- Les associations assurent une préservation de l'environnement par la réduction de la fertilisation azotée (Julier *et al.*, 2014) ;
- La complémentarité, dans l'association légumineuse-espèce non fixatrice d'azote, est liée à la capacité de la légumineuse à fixer l'azote de l'air, qui se manifeste surtout quand les espèces associées sont cultivées en situation de faible disponibilité d'azote, ainsi, les cultures associées ont montré de meilleures performances en termes de production de biomasse et de rendement (Justes *et al.*, 2014) ;
- La facilitation dans les associations se produit lorsqu'une espèce peut mobiliser dans le sol un pool initialement non disponible comme dans le cas du phosphore (Justes *et al.*, 2014) ;

- Olszewska *et al.* (2020) ont trouvé qu'en association luzerne-dactyle, la luzerne était l'espèce prédominante en 2^{ème} et 3^{ème} année d'exploitation, quelle que soit la proportion de graines semées de luzerne (30%, 50% et 70%). De plus, ils ont confirmé que l'association a une valeur alimentaire plus élevée que les cultures pures, car la luzerne contribue à la stabilité et l'augmentation des rendements en matière sèche et en protéines brutes, alors que le dactyle augmente la teneur en glucides hydrosolubles.

1.6. Maladies

Selon Melis *et al.* (2017), pour la production fourragère, seuls les nématodes (*Ditylenchus dispaci*, *Meloidogyne halpa*, *Pratylenchus* spp.), les sitones (*Sitona humeralis* Gyll., *S. discoideus* Steph) et les pucerons posent des problèmes à la luzernière. Alors que d'autres maladies fongiques peuvent être préjudiciables à la production de graines, comme la verticilliose (*Verticillium alboatrum*), la sclérotiniose (*Sclerotinia trifoliorum*), la maladie des tâches communes (*Pseudopeziza medicaginis*), l'anthracnose (*Colletotrichum trifolium*), la rouille (*Uromyces medicaginis-orbicularis*), le mildiou (*Peronospora trifolium*) et le rhizoctone violet (*Rhizoctonia violacea*), ainsi que certaines plantes parasites comme la cuscute (*Cuscuta campestris*) et l'orobanche (*Orobanche minor*).

1.7. Exploitation de la luzernière

La première coupe de la campagne doit se faire au début de la floraison, puis pour les coupes suivantes, le stade optimal correspond au début bourgeonnement ou après 4-8 semaines de repousse, ce rythme d'exploitation va favoriser la reconstitution des réserves racinaires ce qui va assurer la pérennité du peuplement (Abdelguerfi et Laouar, 2002 ; Melis *et al.*, 2017). Bien que, dans certaines oasis du Maghreb, la production de la luzerne est quasi continue et l'intervalle entre les coupes est très court (Abdelguerfi et Laouar, 2002).

La luzerne peut être fournie en vert, mais la plupart est récoltée et conservée sous forme de foin compressé en cubes, ou transformé en ensilage, botte de foin, ou grosses balles (Figure 2) (Small, 2010). En effet, au Maghreb, la luzerne est utilisée principalement en vert (affouragement) et en foin sec (Abdelguerfi et Laouar, 2002). Mais, pour l'utilisation en vert, il faut la laisser se ressuyer 24 heures pour éviter le risque de météorisation chez les animaux (Aït-Abdallah-Djennadi *et al.*, 2010).

La teneur en azote est souvent plus élevée dans la luzerne ensilée que dans le foin (Melis *et al.*, 2017).

La réussite d'un ensilage repose sur l'acidification rapide du fourrage grâce au développement des fermentations lactiques et sur la stabilisation du pH, qui assure la bonne conservation de l'ensilage (Paragon *et al.*, 2004). A noter que, la luzerne fermente difficilement à cause de sa faible teneur en sucres et son pouvoir tampon, donc, l'emploi d'un conservateur est obligatoire pour permettre moins de perte, garder l'ingestion, l'appétence et une meilleure qualité de conservation (Paragon *et al.*, 2004 ; www.hautegaronne.chambre-agriculture.fr). En effet, plusieurs types de conservateurs sont à préconiser pour réussir les ensilages et les enrubannages de luzerne, à savoir, les enzymes seuls ou associées aux inoculants bactériens pour permettre une acidification plus efficace ; les acides comme l'acide propionique et l'acide formique qui permettent une baisse très rapide du pH (www.hautegaronne.chambre-agriculture.fr).

Pellets et cubes

Les pellets (granulés) et les cubes sont deux formes de luzerne déshydratée ou séchée au soleil (Figure 2), et vue leur grande valeur nutritive ainsi que leur transport économique, ils sont recherchés sur les marchés internationaux, particulièrement dans les pays souffrant des difficultés fourragères, comme le Japon (Marble, 1993). La déshydratation et la transformation de la luzerne en pellet évitent la possibilité d'une contamination microbienne et fongique et améliore sa digestibilité (<http://www.cealpa.es>).



A



B



C



D

Figure 2 : A Luzerne granulée ou pellet de luzerne, B Luzerne fanée, C Luzerne déshydratée (<http://www.cealpa.es>), et D Cubes de luzerne déshydratée (<https://www.nafosa.es>)

Enrubannage

Le développement de l'ensilage en balles ou enrubannage (Figure 3) a débuté dans les pays du Nord de l'Europe aux années 1980, et actuellement, il est le moyen le plus répandu surtout dans le système bovin laitier (Vignau-Loustau et Huyghe 2008). En effet, l'enrubannage se positionne à mi-chemin entre l'ensilage et le foin, avec une teneur en matière sèche de 60 à 65 %, ce qui permet de : (i) préserver l'intégrité des protéines durant la conservation ; (ii) la considérer comme une solution opportune pour récolter et conserver les légumineuses fourragères ; ainsi que ce mode de récolte offre pour les éleveurs la possibilité de stocker le fourrage à l'extérieur, ainsi qu'une souplesse d'utilisation (Uijtewaale *et al.*, 2017).

La confection des balles rondes (Figure 3), nécessite de récolter du fourrage en brins longs, et ce mode de récolte apparaît intéressant et plus facile à réussir qu'un ensilage dans le cas de la luzerne qui présente peu de sucres solubles et un fort pouvoir tampon, bien qu'elles ont une valeur énergétique qui est inférieure à celle des fourrages verts dont elles sont issues de 0.05 UFL/kg de M.S (Vignau-Loustau et Huyghe, 2008).

Néanmoins, la réduction des consommations de plastique et le maintien de l'intégrité du film plastique tout au long de la conservation apparaissent comme les deux principaux enjeux auxquels l'enrubannage devra répondre dans les années à venir (Uijtewaale *et al.*, 2017).

En Algérie, on note l'introduction, certes encore limitée, de l'enrubannage sous forme d'ensilage de maïs (Belaid, 2014). Bien qu'actuellement l'enrubannage du maïs soit très répandu au sud de l'Algérie, les statistiques sont totalement absentes pour cette technique.



Figure 3 : Machine des balles rondes enrubannées et entreposage à proximité de la stabulation (Vignau-Loustau et Huyghe, 2008).

1.8. Valeur alimentaire

La luzerne est reconnue comme la plante la plus anciennement cultivée uniquement pour le fourrage (Michaud *et al.*, 1988). Sa valeur énergétique et sa digestibilité sont déterminées essentiellement par le rapport feuilles/tiges car les feuilles sont plus riches en nutriments facilement utilisables par les animaux, donc plus la luzerne est riche en feuilles, plus sa valeur alimentaire est élevée (Mauriès, 1994).

La luzerne est l'aliment idéal pour rééquilibrer les rations riches en énergie ; les détails sur les teneurs en unité fourragère lait (U.F.L), unité fourragère viande (U.F.V) et en protéines, suivant les différentes coupes, stades et mode d'utilisation de la luzerne, sont rapportés dans le Tableau 4.

Tableau 4 : Table de la valeur alimentaire de la luzerne de l'INRA France (GNIS, 2020)

	Première coupe		2 ^{ème} coupe	3 ^{ème} et 4 ^{ème} coupes
Luzerne sur pied	Stade début bourgeonnement	Stade floraison	Coupes suivantes (repousses âgées de 5 semaines)	
• Teneur en U.F.L (nombre d'Unités Fourragères Lait par kg de matière sèche)	0,83	0,69	0,82	0,84
• Teneur en U.F.V. (nombre d'Unités Fourragères Viande par kg de matière sèche)	0,75	0,59	0,75	0,77
• Teneur en protéines (en g par kg de matière sèche)	159	122	178	210
Ensilage de luzerne (brins courts avec conservateur)	stade bourgeonnement		repousses âgées de 7 semaines	
• Teneur en U.F.L. (par kg de matière sèche)	0,77		0,76	
• Teneur en U.F.V. (par kg de matière sèche)	0,68		0,67	
• Teneur en protéines (en g par kg de matière sèche)	126		130	
Foin de luzerne (séché au soleil)	stade bourgeonnement		repousses âgées de 7 semaines	
• Teneur en U.F.L. (par kg de matière sèche)	0,67	0,62	0,67	0,66
• Teneur en U.F.V. (par kg de matière sèche)	0,58	0,52	0,57	0,57
• Teneur en protéines (en g par kg de matière sèche)	123	112	125	138

Marble (1993) rapporte que les pays les plus producteurs de luzerne (Etats-Unis, Canada, Argentine, Australie, Italie) ont démontré que sans aucun aliment supplémentaire, elle peut suffire à satisfaire les besoins énergétiques, protéiques, minéraux et vitaminiques d'un bétail laitier dont le rendement journalier atteint jusqu'à 23 kg de lait. En effet, la luzerne contient généralement de 15 à 22% de protéines brutes et peut produire plus de deux fois plus de protéines que le soja en zones à conditions climatiques favorables (Small, 2010). Cependant, les teneurs en matières azotées (MAT) diminuent avec l'âge de la luzerne, elle contient de 20 à 29% au stade végétatif, de 20 à 22% au stade bourgeonnement, de 20% au stade début floraison, et de 16 à 18% au stade pleine floraison (Vignau-Loustau et Huyghe, 2008). Elle contient aussi une teneur élevée en fibres qui aident à la rumination et limite les risques d'acidose, mais aussi elle est hautement digestible (60-75% de la matière sèche totale), bien que son utilisation au pâturage peut nécessiter une certaine prudence en raison du risque de météorisation, d'où il est recommandé de pré-nourrir préalablement le bétail avec du fourrage sec (Melis *et al.*, 2017).

II. Situation des cultures fourragères en Algérie

Le système fourrager a pour fonction d'assurer la correspondance entre le système de culture et le système d'élevage. Dans le système de culture, plusieurs aspects sont à examiner, à savoir le choix des espèces qui est conditionné par la qualité des sols et le climat, la durée du cycle de production végétale, la sécurité d'approvisionnement en fourrages et les conditions d'exploitation des ressources fourragères (Vignau-Loustau et Huyghe, 2008). Cependant, l'idée de cultiver de l'herbe n'est pas encore facilement admise en Algérie (Abdelguerfi et Laouar, 2013).

Les ressources fourragères sont assurées en grande partie par les terres de parcours entre 36% en 2012 à 44% en 2001 (jachères, prairies naturelles, parcours steppiques, parcours forestiers...) et les sous-produits de la céréaliculture entre 20% en 2012 et 37% en 2001 (chaumes des céréales, pailles) (Figure 4), ce qui dénote le caractère extensif de la production fourragère en Algérie (Adem et Ferrah, 2002 ; Abdelguerfi *et al.*, 2008 ; Merdjane, 2014 ; Merdjane et Yakhlef, 2016). En outre, de nombreux élevage laitiers sont en hors sol ou ne disposent pas de surface fourragères suffisantes, en ajoutant à cela, le facteur climatique qui se manifeste par un déficit hydrique saisonnier et de fortes chaleurs estivales, qui constituent les principaux obstacles à la production fourragère (Belaid, 2014).

L'orge est l'élément clé de toute la production fourragère en Algérie, et continue à occuper une place importante dans toutes les régions, du nord au sud, et ceci grâce à la diversification d'utilisation : en vert (gsil) ; en ensilage ; en foin et par son grain et sa paille, de plus la disponibilité de la semence des deux variétés les plus utilisées 'Saida et Tichedrett' (Abdelguerfi et Laouar,

2013). Sur la Figure 4, les graines d'orge et avoine, couvrent 27,85% de l'offre fourragère nationale. Alors que, la contribution des fourrages cultivés (en sec et en vert) à la satisfaction des besoins du cheptel est très faible, de l'ordre de 15,87% soit seulement 960 millions d'UF en moyenne (Figure 4) (Merdjane, 2014 ; Merdjane et Yakhlef, 2016).

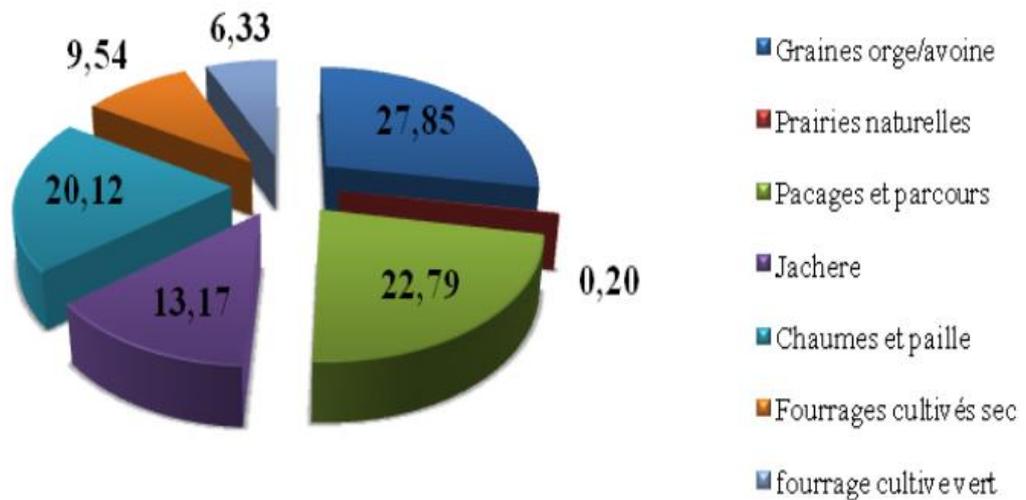


Figure 4 : Répartition (en %) de l'offre fourragère par type de fourrage à l'échelle nationale (Merdjane et Yakhlef, 2016)

Selon Issolah (2008), les contraintes de la filière fourrages sont institutionnelles, foncière, organisationnelles, techniques et économiques, et se résument comme suit : l'utilisation dominante des céréales et surtout l'association vesce/avoine ; l'utilisation d'un matériel végétal de faible performance ; la qualité médiocre des fourrages secs à cause de la récolte souvent tardive ; l'absence de la production de semences (les besoins étant couverts par les importations) ; l'absence de la technique d'ensilage et la faiblesse de l'affouragement en vert ; la faiblesse des niveaux d'équipement et l'utilisation d'outils non adaptés pour la récolte ; la méconnaissance totale des techniques culturales des espèces fourragères à petites graines (bersim, luzerne, etc.) ; et le manque de ressources hydriques pour l'irrigation.

Cependant, le système d'élevage en Algérie est diversifié, en effet, la structure des élevages varie selon les zones agroécologiques : zone tell littoral est dominée par l'élevage bovin (72 %) ; les zones céréalières et sublittoral sont dominées par l'association ovins/bovins ; les ovins en zones steppiques (75 %) ; et les camelins en zones sahariennes (56 %) (Adem et Ferrah, 2002). L'annexe 1 montre l'évolution des effectifs du cheptel algérien par espèce sur la période de 2008 à 2019. En effet, une nette augmentation est remarquée d'année en année. L'ovin occupe de 77 % à 78 % du cheptel total.

2.1. Problème du déficit fourrager

L'alimentation constitue l'une des contraintes majeures à l'essor de l'élevage en Algérie, d'ailleurs, le taux de couverture des besoins du cheptel algérien se situe à moins de 80 % pour une offre estimée à 8 milliards d'unités fourragères et un déficit de 2,5 milliards en 2001 (Adem et Ferrah, 2002). Tandis qu'en 2012, le déficit s'est accentué à près de 7 milliards d'UF, soit un taux de couverture moyen de 45,37% (Merdjane, 2014 ; Merdjane et Yakhlef, 2016). L'accentuation d'écart entre les besoins du cheptel algérien et les disponibilités fourragères est due à l'augmentation des effectifs du cheptel, accélérant ainsi la dégradation des parcours et de la composition floristique des prairies, ainsi que la diminution de leur production (Bouzida *et al.*, 2010).

Les résultats de Merdjane et Yakhlef (2016) montrent que les besoins énergétiques du cheptel national s'élèvent à 13,34 Mrds d'UF dont plus de 31,86% sont exprimés par le cheptel de la zone semi-aride soit 4,25 milliards d'UF (Tableau 5). Ainsi, le déficit le plus prononcé est observé à l'échelle des zones semi-arides (2,075 milliards d'UF) et arides (1,644 milliards d'UF) marquées par une forte concentration du cheptel et une forte dégradation de leurs parcours (Merdjane, 2014).

En 2012, les terres consacrées à la production fourragères couvrent plus de 39 millions d'ha (soit 93% de la SAT). Elles offrent plus de 6,054 milliards d'UF (Tableau 5). Pour leur majorité ces terres produisent des fourrages naturels. Les terres consacrées à la culture des fourrages sont très réduites et sont de 961 841 ha selon MADR 2019 (Tableau 8).

La situation fourragère du cheptel met en évidence la présence d'un large écart entre les besoins alimentaires exprimés par le bétail et les disponibilités fourragères permises par les différentes ressources (Tableau 5 et Figure 5).

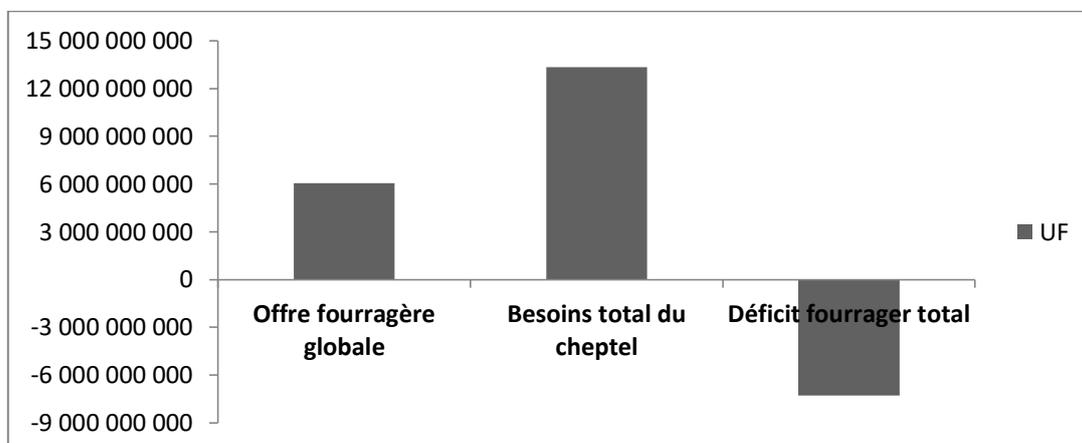


Figure 5 : Bilan fourrager en énergie (UF) au niveau national en année 2012, à partir des données de Merdjane et Yakhlef (2016)

Tableau 5 : Surface fourragère, Types de fourrages et Bilan fourrager en UF en 2012 selon Merdjane et Yakhlef (2016)

	Total
SURFACE (ha)	
SAT	42 499 430
Surface fourragère SF	39 359 592 (dont presque 32 000 000 sont les package et parcours et 4 000 000 de jachère)
Surface Agricole utile	8 500 000
OFFRE EN UF (%)	
Graines orge/avoine	1 686 059 150 (27,85)*
Pacages et parcours	1 379 681 750 (22,79)*
Prairies naturelles -1-	12 167 500 (0,20)*
Jachères -2-	797 522 875 (13,17)*
Fourrages cultivés secs -3-	577 618 628 (9,54)*
Fourrages cultivés verts-4-	383 090 750 (6,33)*
Chaumes et pailles -5-	1 218 275 105 (20,12%)*
Total fourrages cultivés (3+4)	960 709 378 (15,86%)*
Total fourrage	2 988 674 858 (49,36)* (1+2+3+4+5)
Offre fourragère globale	6 054 415 758 (100%)*
BESOIN DU CHEPTEL EN UF (%)	
Besoin national bovin	4 056 418 590 (30,40)**
Besoin national ovin	6 901 481 940 (51,72)**
Besoin national caprin	873 975 870 (6,55)**
Besoin national camelin	1 140 590 400 (8,55)**
Besoin national équin	371 584 350 (2,78)**
Besoins du cheptel à l'échelle nationale	13 344 051 150
Besoins du cheptel en zone semi-aride	4 250 886 690 (31,86 % des besoins nationaux)
Déficit national	- 7 289 635 392
Taux de couverture nationale %	45,37

* % par rapport à l'offre fourragère globale, ** % par rapport aux besoins à l'échelle nationale

2.2. Répercussions du déficit fourrager

Pour combler le déficit, les éleveurs se tournent vers les aliments concentrés importés, qui deviennent de plus en plus cher (Merdjane & Yakhlef, 2016). L'état algérien fait un recours massif aux importations de produits animaux à l'instar des produits laitiers et carnés (Adem et Ferrah, 2002). L'Algérie importe principalement les tourteaux de soja, de la poudre du lait et même dans certaines années, des viandes rouges (Figures 6, 7, 8 et Tableau 7) (FAOSTAT, 2020).

En Algérie, tous les programmes et dispositifs politiques, instaurés dans le but de construire une filière lait autosuffisante et solide, ont échoué, et le recours à l'importation de la poudre de lait est très vite devenu le mot d'ordre de la filière, renforçant ainsi la dépendance de l'économie nationale du marché extérieur par 66,6% de la consommation par habitant (Makhlouf *et al.*, 2015 ; Zaida, 2016). En effet, la totale déconnexion de l'industrie laitière de la sphère de production locale est claire, car l'intervention de l'Etat a encouragé davantage la consommation que la production, en négligeant ainsi l'intensification de la production laitière à l'amont (Amellal, 1995). D'ailleurs, sans

la subvention de 55% de l'Etat sur le prix de consommation du lait pasteurisé, le prix sera 56 DA/l au lieu de 25 DA/l (Makhlouf *et al.*, 2015).

Makhlouf *et al.* (2015), soulignent que l'amont de la filière lait en Algérie reste toujours soumis à de fortes contraintes, ce qui limite son développement, et les deux principales contraintes sont la petite taille des exploitations laitières (Tableau 6), mais surtout l'insuffisance des ressources fourragères (Bouzida *et al.*, 2010). Ainsi, 99% des exploitations laitières sont du type familial et traditionnel qui ne dépasse pas 9 vaches laitières par exploitation, alors que les élevages modernes et industriels qui ont respectivement, 45 et 171 vaches laitières, n'occupent que 1% de l'effectif national (Tableau 6).

Tableau 6 : Structure des systèmes d'élevage en Algérie (Makhlouf *et al.*, 2015).

Type d'élevage	Effectif en % de l'effectif national	% de vaches reproductrices	Taille moyenne : Nombre de vaches laitières / exploitation
Familial	85,9	57,4	2
Traditionnel	13,1	31,0	9
Moderne	0,9	9,1	45
Industriel	0,1	2,5	171

Bouzida *et al.* (2010) ont noté une très forte dépendance des élevages bovins laitiers vis-à-vis du concentré (distribution journalière de 8 et 14 kg/vache laitière) dans la plupart des exploitations laitières enquêtées dans la wilaya de Tizi Ouzou, ce qui confirme que la seule importation de vaches laitières à haut potentiel génétique est une stratégie insuffisante et inadéquate puisque les performances individuelles de ces animaux dans nos conditions d'élevage restent faibles faute des fourrages déficitaires en quantité et en qualité.

Selon l'Office National Interprofessionnel du Lait (ONIL) (2018), la consommation annuelle du lait en Algérie est de 5 milliards de litres, dont 3,5 milliards de litres produites localement, tandis que, 1,5 milliards de litres, est importé sous forme de poudre de lait subventionnée. Actuellement, l'Algérie est le plus grand importateur de produits laitiers du continent africain, et les principaux pays exportateurs sont l'Union européenne, la Nouvelle-Zélande, l'Australie et l'Argentine (FAO, 2018).

Le groupe «lait et produits laitiers» occupe la deuxième place parmi les produits alimentaires importés en Algérie (Makhlouf *et al.*, 2015). Malheureusement, l'économie laitière mondiale entre dans une décennie de prix élevés et très volatiles et instables (Makhlouf, & Montaigne, 2016), ce qui rend la situation de l'Algérie plus compliquée dans l'avenir.

Le Tableau 7 et les Figures 6, 7 et 8, illustrent les quantités ainsi que les valeurs des produits animaux et concentrés, importés entre 2011 et 2020. En fait, les quantités du lait en poudre importées restent plus au moins stables d'année en année, avec une moyenne, pour 10 années, de 358 913 tonnes à plus d'un milliard de dollars. Aussi, près de 1 219 021 de tonnes de tourteaux de soja est importés annuellement. La viande bovine est importée à des quantités plus au moins modestes, environ 7 569 tonnes en moyenne, tandis que la viande ovine a été surtout importée entre 2012 et 2017, mais à des quantités modestes (1 997 tonnes en moyenne).

Tableau 7 : Importation de produits d'origine animale et des tourteaux de soja durant la période 2011-2020 (FAOSTAT, 2022)

Année	Lait en poudre		Viande bovine		Viande ovine		Tourteaux de soja	
	Quantité/Tonnes	Valeur/1000 US\$	Quantité/Tonnes	Valeur/1000 US\$	Quantité/Tonnes	Valeur/1000 US\$	Quantité/Tonnes	Valeur/1000 US\$
2011	333 479	1 360 167	1 972	11 066	0	0	1 116 547	485 340
2012	299 628	1 090 738	1 811	10 092	3 055	14 599	860 905	461 658
2013	261 723	1 071 844	2 847	15 366	2 857	15 119	1 243 520	698 011
2014	372 050	1 796 386	3 603	19 411	4 633	27 181	1 431 709	820 593
2015	359 672	1 000 792	5 864	25 378	3 548	19 321	1 420 346	603 348
2016	343 731	798 656	9 634	41 301	3 395	16 850	1 330 516	533 646
2017	423 320	1 234 792	10 760	44 395	2 390	11 760	1 160 788	422 800
2018	439 153	1 237 919	13 842	69 375	39	691	1 449 017	614 599
2019	355 993	1 093 032	18 394	84 036	/	/	1 434 693	509 873
2020	400 382	1 310 431	7 569	35 463	/	/	742 173	270 761
Moyenne de 10 ans	337 883	1 132 973	5 264	24 350	1 997	10 562	1 219 021	542 063

Sur la Figure 6, on remarque très bien les fluctuations des prix de lait en poudre sur le marché mondial, comme en 2014, le prix d'une tonne était le plus cher de toutes les années.

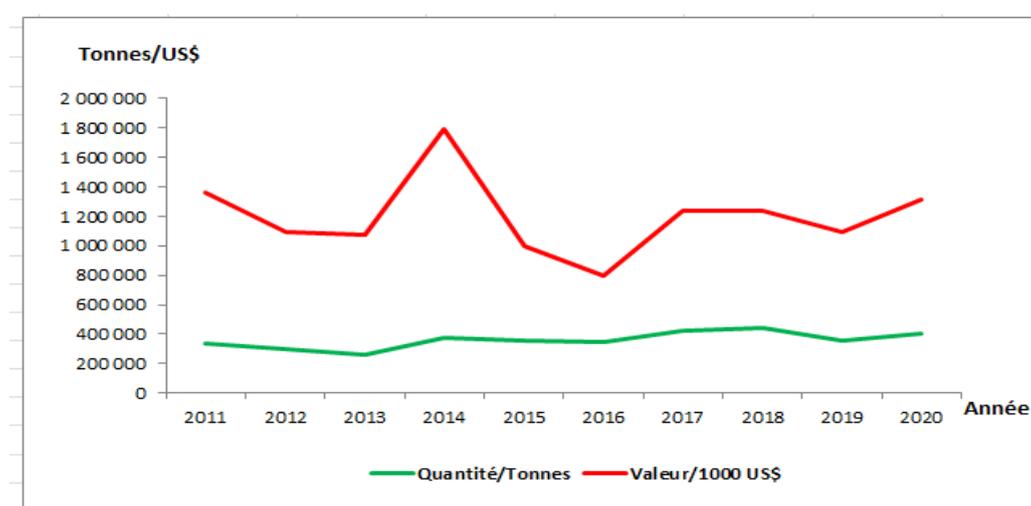


Figure 6 : Quantité de lait en poudre importée durant la période 2011-2020 et valeur (FAOSTAT, 2022)

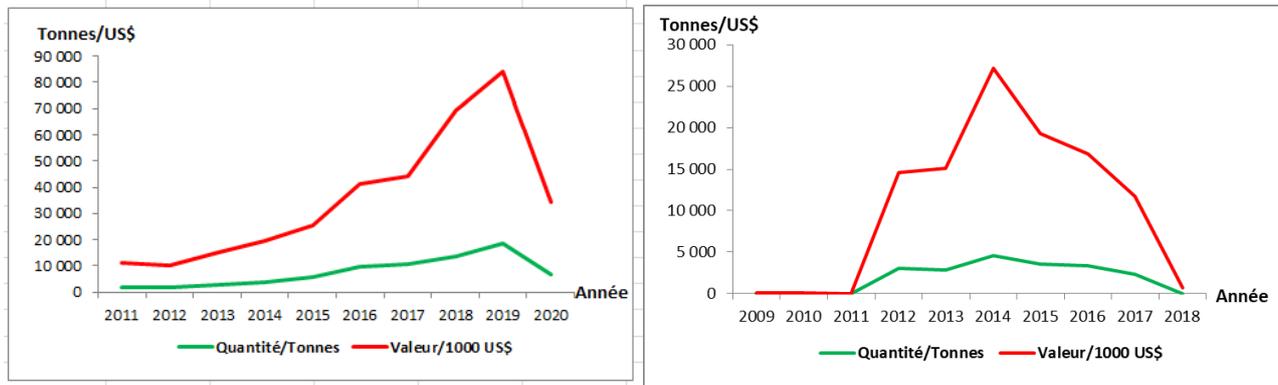


Figure 7 : Quantité de viande bovine à gauche (2011-2020), et viande ovine à droite, importée durant la période 2009-2018 et valeur (FAOSTAT, 2022)

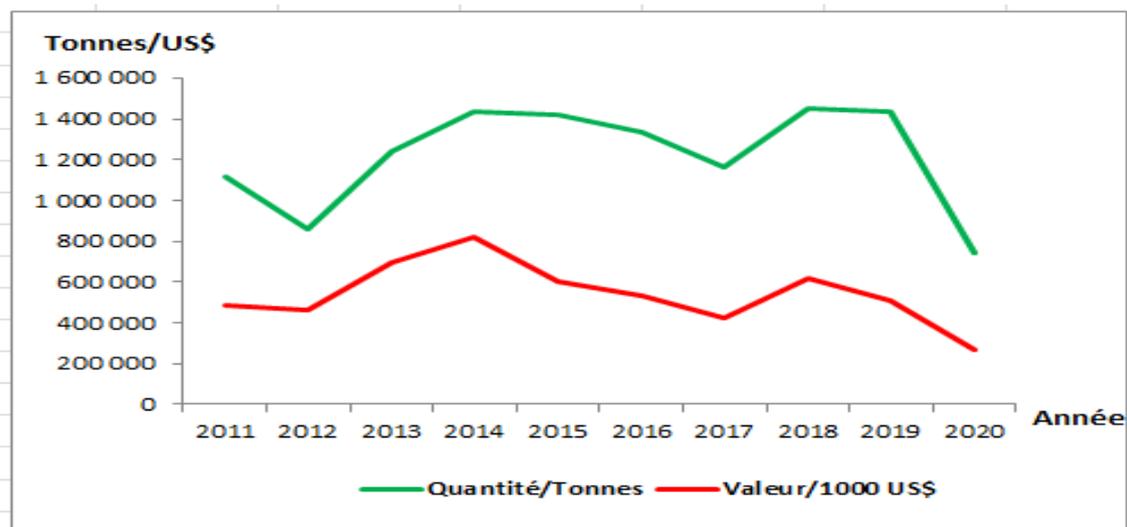


Figure 8 : Quantité de tourteaux de soja importée durant la période 2011-2020 et valeur (FAOSTAT, 2022)

2.3. Solutions possibles pour atténuer le déficit fourrager

Malgré les mesures de soutien, très coûteuses aux caisses de l'Etat, le secteur de l'élevage laitier n'a toujours pas passé le stade embryonnaire et demeure loin d'atteindre l'autosuffisance (Zaida, 2016). Ainsi donc, l'intensification de la production laitière au niveau des exploitations pourrait être réalisée en orientant l'enveloppe dédiée à l'importation de la poudre de lait vers l'amélioration de l'alimentation par une intensification du réseau d'irrigation ; et l'attribution aux éleveurs, de superficies plus conséquentes pour leurs cultures fourragères, ainsi que l'amélioration de la reproduction du cheptel laitier (Bouzida *et al.*, 2010 ; Zaida, 2016). En conséquence, ces mesures favoriseront l'autonomie fourragère des exploitations et assureront un développement durable de la filière lait (Bouzida *et al.*, 2010).

La problématique des fourrages en Algérie doit être sérieusement prise en charge, où il est indispensable d'évaluer et de valoriser les nombreuses espèces spontanées à intérêt fourrager citées par de nombreuses études, ainsi qu'améliorer les pratiques culturales et encourager la production des semences fourragères les plus adéquates en fonction des différentes zones agro-édapho-climatiques du pays (Issolah, 2008).

En fonction des différentes grandes zones agroécologiques, plusieurs options sont proposées par plusieurs auteurs algériens :

1. Zones favorables et périmètres irrigués

La vocation principale de ces zones est la polyculture et l'élevage bovin laitier. De nombreuses espèces fourragères très intéressantes, rencontrées à travers le Nord-Est de l'Algérie notamment celles appartenant aux genres *Trifolium*, *Medicago*, *Avena*, *Hedysarum*, *Dactylis*, et *Lotus*, méritent d'être valorisées (Issolah, 2008). De plus, la diversification des cultures fourragères et des méthodes de conservations sont possibles dans ces régions (Abdelguerfi *et al.*, 2008). D'ailleurs, Belaid (2014), propose le sorgho grain ensilé, qui constitue une alternative au maïs ensilé gourmand en eau, où le sorgho en vert pour assurer un affouragement durant la saison estivale. Aussi, la luzerne associée à une graminée (dactyle ou fétuque) peut permettre d'améliorer la fenaison ainsi que la qualité du fourrage récolté (Belaid, 2014).

2. Zones céréalières et jachères

Dans ces zones à climat semi-aride, domine le système céréales/élevage/jachère. Dans les hautes plaines céréalières, l'amélioration de la production des jachères et des prairies est une nécessité (Abdelguerfi *et al.*, 2008 ; Issolah, 2008), car 68,69% des apports fourragers sont issus de la céréaliculture (Merdjane & Yakhlef, 2016). Tedjari (2018) a prouvé dans sa thèse que le réensemencement des prairies naturelles par des mélanges graminées-légumineuses pérennes était bénéfique où une augmentation significative en quantité et en qualité de la biomasse au stade pâturage a été notée.

Les légumineuses fourragères annuelles comme celles du genre *Vicia* sont parmi les solutions à envisager pour remplacer l'année de jachère dans la rotation céréale-jachère (Issolah, 2008). Abbas *et al.* (2014) ont noté des performances productives intéressantes de quelques espèces fourragères (triticale, avoine, vesce de Narbonne, vesce commune et le pois fourrager) testées, ce qui encouragent le développement de ces cultures prometteuses pour la réduction des jachères et l'amélioration des conditions d'alimentation du bétail.

Le développement de l'utilisation de l'orge à double fin où la pâture de « l'orge en vert », bien adaptée à ces régions souvent froides en hiver et assez sèches au printemps, constitue l'élément clé du système fourrager dans ces zones (Issolah, 2008), car cette pratique traditionnelle assure une extension de la période de pâturage jusqu'aux premières gelées, puisque elle est ensemencée en petites surfaces espérant d'éventuels orages de début d'automne qui assureraient une levée rapide (Belaid, 2014).

Les associations céréales-légumineuses comme : vesce-avoine, triticales-pois fourrager ou orge-pois fourrager, sont particulièrement intéressantes car elles améliorent la qualité des fourrages, profitent de la période hors déficit hydrique et les foins récoltés permettent la constitution de réserves hivernales (Belaid, 2014).

Le développement de kit d'irrigation permet certes d'envisager d'autres fourrages comme le colza fourrager où des implantations sous irrigation sont possibles dès septembre (Belaid, 2014). En outre, sur les exploitations d'élevage laitier intensif et en irrigué, le fourrage a nécessairement sa place surtout les cultures fourragères d'hiver comme le bersim et ray-grass d'Italie ; cependant, les medics annuels, peuvent également être installés comme une plante pluriannuelle autorégénératrice, s'insérant dans l'assolement céréalier (Merdjane & Yakhlef, 2016).

3. Les parcours steppiques

Au niveau des parcours steppiques, la gestion reste un des éléments déterminants de l'amélioration de la production et de la préservation du couvert végétal (Abdelguerfi *et al.*, 2008). De plus, la mise en place d'arbustes fourragers entreprise par le HCDS (Haut-commissariat du développement de la steppe) doit se poursuivre et se renforcer (Issolah, 2008). Enfin, l'amélioration des parcours devrait s'appuyer sur l'amélioration des ressources pastorales existantes par la mise en défends, des coupes de rajeunissement, voire la fertilisation et sur des plantations soit d'espèces fourragères adaptées, soit d'arbustes fourragers tels les Cactus, les Acacia et les Atriplex (Merdjane & Yakhlef, 2016).

4. Les régions sahariennes

Au milieu aride comme les oasis, se développe une agriculture vivrière traditionnelle en étage, basée sur la culture du palmier-dattier et des systèmes traditionnels durables de sorgho et de luzerne grâce à l'utilisation d'un système d'irrigation ancestral, appelé Foggara parfaitement adapté à la région (Issolah, 2008 ; Belaid, 2014)

III. Situation de la culture de luzerne

Les principales régions productrices sont l'Amérique du Nord et du Sud et l'Europe. Seulement 3% de la superficie mondiale de la luzerne est cultivée en Afrique et la production est importante dans les pays d'Afrique du Nord où elle est cultivée sous irrigation (Melis *et al.*, 2017).

La politique de l'Algérie a toujours visé le développement de certaines filières agricoles prioritaires pour améliorer la sécurité alimentaire nationale, et la filière lait a toujours bénéficié d'une grande part des différents plans nationaux dont notamment le Programme National de Développement Agricole (PNDA 2000-2010), la Politique de Renouveau Agricole et Rural (PRAR 2010-2014) et aujourd'hui, le Plan FELAHA 2014-2020, et ceci par des subventions accordées à la production de l'alimentation des vaches laitières (luzerne, maïs fourrager, ensilage...) en vue d'encourager les opérateurs à développer ce maillon faible de la filière que constitue l'alimentation animale (Bessaoud *et al.*, 2019).

Des mesures d'accompagnement économique pour la culture de la luzerne initiées par le MADR consistent en des soutiens de : 20% du prix de vente des engrais ; 25 à 40% pour l'acquisition du matériel agricole (leasing) ; 50% du prix de vente pour l'acquisition de la semence fourragère et l'encouragement à l'acquisition de matériels économisant l'eau (Aït-Abdallah-Djennadi *et al.*, 2010).

Par ailleurs, la sélection et l'amélioration génétique de variétés de fourrages figurent parmi les actions d'adaptation du Plan National du Climat (PNC) à moyen terme 2020-2035, piloté par la MADR (PNC, 2019).

En Algérie, les superficies fourragères regroupent les pacages et parcours, les prairies naturelles, les jachères fauchées, les fourrages artificiels consommés en sec (vesce-avoine, luzerne, céréales reconverties, divers) et les fourrages artificiels consommés en vert ou ensilés (maïs-sorgho, orge, avoine et seigle en vert, trèfle et luzerne, autres) (Tableau 8).

En effet, la Surface Agricole Utile (SAU) représente, en 2019, 3,5% de la superficie totale du pays, alors que les pacages et parcours occupent, environ 13,8% et ils constituent la plus grande source d'alimentation du cheptel avec 97,14% des ressources fourragères et pastorales (MADR 2019). Les fourrages naturels et artificiels occupent 13,5% de la SAU avec une augmentation de 58% par rapport à 2007 [8,57% de la SAU selon Issolah (2008)]. Les cultures fourragères (sec et vert) sont représentées par 2,04%, tandis que les fourrages naturels (prairies et jachères fauchées) ne sont représentés que par 0,81% de la totalité des ressources fourragères et pastorales (Tableau 8). Les superficies réservées aux fourrages artificiels consommés en sec sont environ quatre fois plus importantes que celles consacrées aux fourrages artificiels consommés en vert (Tableau 8).

Le Tableau 8 résume la situation fourragère en Algérie selon les dernières statistiques de MADR (2019), dont la négligence de la culture de la luzerne est nettement notée où elle n'occupe que 1,29% et 2,71% du total des fourrages artificiels, respectivement pour la luzerne en foin sec et la luzerne avec le trèfle en vert. Par comparaison au pays voisin, l'écart est énorme, au Maroc, la luzerne occupe 455 000 ha, environ 25% de la superficie consacrée aux cultures fourragères dont 40% en systèmes irrigués (Mouradi *et al.*, 2018).

Tableau 8 : Superficie Agricole utile, superficies et productions de différents types de fourrages en Algérie (MADR, 2019)

	Superficies (ha)	Production (qx)
Superficie Agricole Utile (SAU)	8 563 669	
Pacages et parcours	32 752 530 97,14% ¹	
Fourrages naturels (prairies et jachère fauchée)	273 581 0,81% ¹	8 970 997
Fourrages artificiels en sec (vesce-avoine, luzerne, céréales et divers)	449 774 1,33% ¹	17 979 420
Fourrages artificiels en vert/ensilé (maïs et sorgho, orge, avoine, seigle, luzerne et trèfle, autres)	238 486 0,70% ¹	25 658 495
Luzerne en sec	8879 1,29% ²	2 158 847
Luzerne et trèfle vert	18 709 2,71% ²	4 600 856
Total des fourrages artificiels (sec et vert)	688 260 2,04% ¹	43 637 915
Total des fourrages (naturels et artificiels)	961 841 2,85% ¹	52 608 912
Total des ressources fourragères et pastorales	33 714 371	

%¹ : par rapport au total des ressources fourragères et pastorales ; %² : par rapport au total des fourrages artificiels

Les Tableaux 9 et 10 et les Figures 9 et 10, montrent l'évolution des superficies et de la production totale de la luzerne en sec et en vert en Algérie durant la période 2010-2019. La superficie de luzerne en foin sec avait progressé de 2010 à 2014 et en 2015 avait reculé de 56%. A partir de 2016, les superficies ont repris en accroissement, par contre les rendements à l'hectare ont augmenté, et ceci peut être grâce aux variétés utilisées et à l'utilisation de l'irrigation. Alors que, les superficies et les productions de luzerne et trèfle en vert ont plus que triplées de 2010 à 2019, avec des fluctuations assez faibles en rendement à l'hectare.

Tableau 9 : Superficie, production et rendement de la luzerne en sec (foin) en Algérie entre 2010-2019 (MADR, 2019)

	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019
Superficie (ha)	2425,0	1970,0	2934,0	3766,0	6271,0	3517,0	4222,0	4505,8	9305,0	8879,0
Production (t)	19619,1	21881,0	28586,7	23898,2	50771,9	38945,6	70633,4	56293,6	176387,4	215884,7
Rendement (t/ha)	8,1	11,1	9,7	6,3	8,1	11,1	16,7	12,5	19,0	24,3

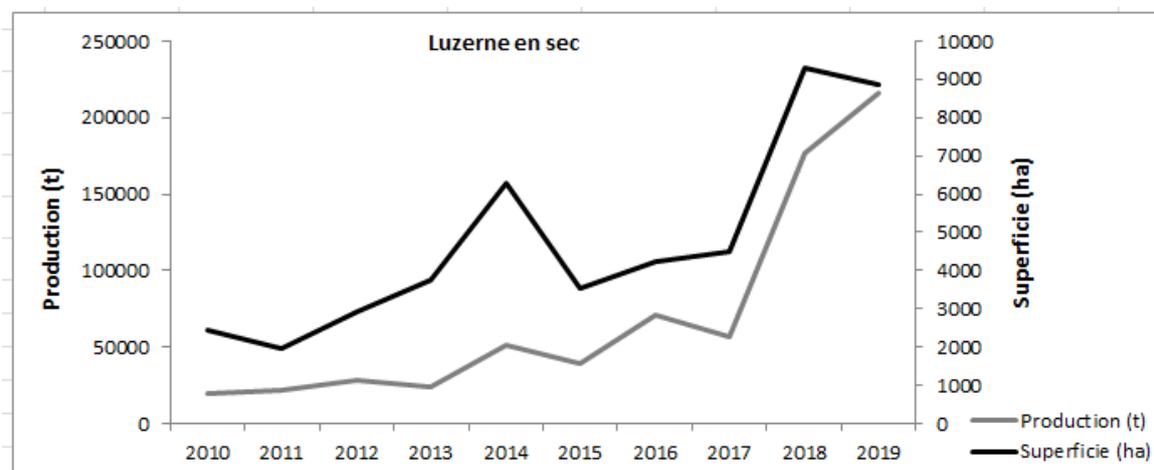


Figure 9 : Evolution des superficies et productions de la luzerne utilisée comme foin sec de 2010 à 2019

Tableau 10 : Superficie, production et rendement de la luzerne en vert/ensilée avec le trèfle en Algérie entre 2010-2019 (MADR, 2019)

	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019
Superficie (ha)	10033,0	10964,0	12350,0	15653,0	15511,0	16773,4	19980,1	22710,3	18489,0	18709,0
Production (t)	290619,7	284715,0	311362,5	348577,3	357733,0	424850,8	435266,9	560116,3	468942,5	460085,6
Rendement (t/ha)	29,0	26,0	25,2	22,3	23,1	25,3	21,8	24,7	25,4	24,6

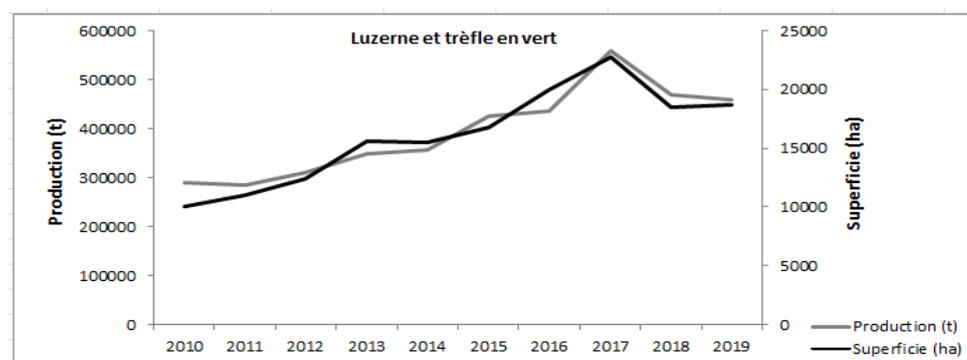


Figure 10 : Evolution des superficies et productions de la luzerne et le trèfle utilisés en vert/ensilage de 2010 à 2019

Les 5 principaux exportateurs de farine et de granulés de luzerne dans le monde sont : l'Espagne, les États-Unis, l'Italie, la France et l'Australie (FAO STAT, 2020).

L'Algérie est importatrice de luzerne est cela depuis 2013 (Figure 11).

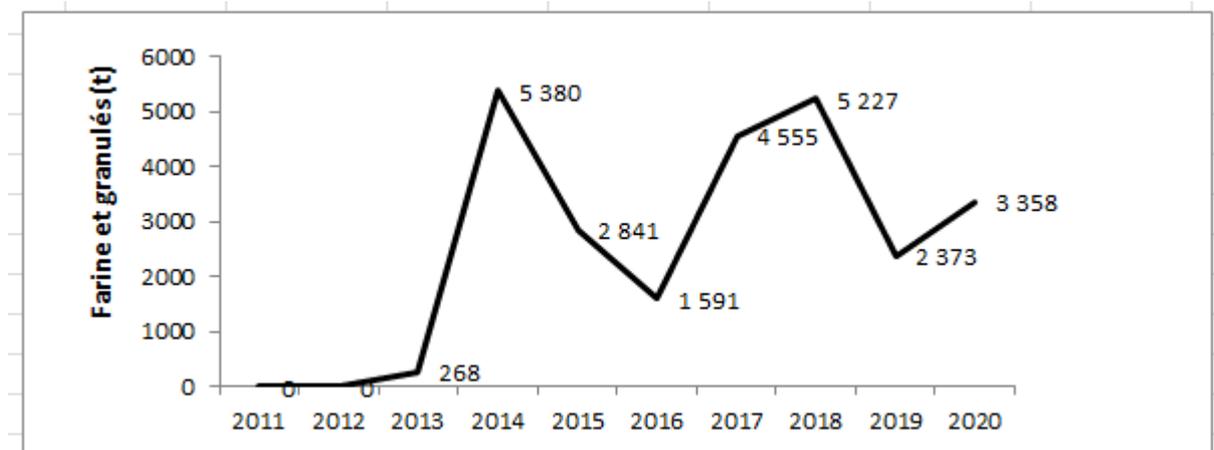


Figure 11 : Evolution des importations de l'Algérie des farines et des granulés de luzernes (pellets) de 2011-2020 (FAO STAT, 2022)

IV. Mécanisme d'adaptation de la luzerne aux stress abiotiques (déficit hydrique et à la salinité)

La salinité et la sécheresse sont deux facteurs abiotiques majeurs limitant la production végétale (Bao *et al.*, 2009), et surtout celle de la luzerne (Zhang *et al.*, 2016 ; Mouradi *et al.*, 2018). D'ailleurs, les plantes supérieures ont développé des mécanismes complexes pour s'adapter rapidement à ces stress, et de plus en plus une grande attention est accordée aux mécanismes de tolérance, y compris les métabolismes biochimiques, les variations morphologiques et l'expression des gènes (Kumar *et al.*, 2018). Cependant, la luzerne présente un niveau de tolérance relativement élevé à la sécheresse et au stress salin (Hrbáčková *et al.* 2020).

En effet, les années 2015-2018 ont été les quatre années les plus chaudes jamais enregistrées, de plus, l'alternance canicule et sécheresse devient un défi pour l'agriculture (Valiollahi *et al.*, 2020), mais aussi une contrainte grave pour la productivité agricole mondiale ; surtout que son intensité et sa sévérité devraient augmenter dans un proche avenir (Nadeem *et al.*, 2019 ; Hossain *et al.*, 2020).

La résistance à la sécheresse des plantes est un caractère extrêmement complexe ; par conséquent, développer des cultures économes en eau et résistantes reste un défi majeur pour faire face à la pénurie d'eau et à la demande croissante de production alimentaire à l'avenir (Fang & Xiong, 2015).

4.1. Déficit hydrique-sècheresse-

4.1.1. Effets du déficit hydrique

Sous sécheresse, les voies physiologiques, biochimiques et métaboliques clés sont gravement perturbées ce qui induit un impact négatif sur les performances des plantes, entraînant une perte de rendement significative (Nadeem *et al.*, 2019). Par conséquent, la sécheresse réduit la taille des feuilles, l'extension des tiges et la prolifération des racines (Farooq *et al.*, 2009). Mais aussi, elle réduit la germination et entraîne un retard de croissance, de graves dommages à l'appareil photosynthétique, et une réduction de l'absorption des nutriments (Nadeem *et al.*, 2019).

La sécheresse est probablement le principal facteur environnemental abiotique qui affecte le plus sévèrement la production de luzerne dans le monde (Zheng *et al.*, 2017). Elle réduit : la teneur en acides aminés tels que l'asparagine, l'acide glutamique et la teneur en protéines de Rubisco, dans les feuilles de luzerne ; augmente les niveaux d'acides aminés (proline) et de sucre soluble (D-pinitol) pour contribuer à la diminution du potentiel osmotique ; et inhibe l'activité de la Nitrogénase au niveau des nodules (Aranjuelo *et al.*, 2011). En période de sécheresse, la longueur des racines et des tiges de la luzerne diminuent, ce qui entravent la croissance et le développement, le rendement final de la luzerne (Mauriès, 1994 ; Castroluna *et al.*, 2014).

4.1.2. Mécanisme d'adaptation des plantes au déficit hydrique

Les plantes ont développé plusieurs adaptations à la sécheresse, y compris l'esquive et l'évitement, l'accumulation de soluté compatible, la régulation antioxydante et la régulation hormonale (Farooq *et al.*, 2009 ; Fang & Xiong, 2015 ; Nadeem *et al.*, 2019). Aussi, certaines plantes peuvent réduire leur surface soit par la chute des feuilles, soit par la production de feuilles plus petites (Farooq *et al.*, 2009). Selon Farooq *et al.* (2009), la tolérance à la sécheresse est la capacité de croître, de fleurir et de fournir un rendement économique avec un approvisionnement en eau sous-optimal. Aussi, au niveau moléculaire, plusieurs gènes sensibles à la sécheresse et facteurs de transcription ont été identifiés, tels que le gène de liaison à l'élément sensible à la déshydratation, l'aquaporine, et les déshydrines (Farooq *et al.*, 2009).

A. L'esquive (évasion) : Le principal mécanisme d'adaptation des plantes à la sécheresse est de s'échapper et qui consiste à adapter le cycle de la culture à la disponibilité en eau et à la demande d'évaporation, généralement en réduisant sa durée, ce qui permet aux plantes de se reproduire avant le début des épisodes de sécheresse (Farooq *et al.*, 2009 ; Tardieu, 2013 ; Nadeem *et al.*, 2019 ; Hossain *et al.*, 2020) . En effet, cette stratégie est adoptée par certaines plantes du désert qui ont un cycle très rapide après la pluie, et terminent ce cycle avant l'apparition d'un déficit hydrique

(Tardieu, 2013). Aussi, la période de floraison est un trait majeur de l'adaptation d'une culture à l'environnement, en particulier lorsque la saison de croissance est limitée par une sécheresse terminale et des températures élevées (Farooq *et al.*, 2009).

B. Évitement : Les plantes évitent généralement la sécheresse par la réduction de la perte d'eau via une fermeture stomatique rapide ainsi que la réduction du taux de croissance des feuilles par exemple par un enroulement (Tardieu, 2013), mais en maintenant également l'absorption d'eau grâce à un système racinaire étendu et prolifique (Farooq *et al.*, 2009 ; Tardieu, 2013).

C. Défense antioxydante : Le système de défense antioxydante de la cellule végétale constitue à la fois des composants enzymatiques (les polyamines, la citrulline) et non enzymatiques, qui réduisent les effets néfastes du déficit hydrique (Farooq *et al.*, 2009).

D. Régulateurs de croissance des plantes : Les phytohormones telles que l'acide salicylique, les auxines, les gibbérellines, la cytokinine et l'acide abscissique, jouent un rôle essentiel dans la tolérance à la sécheresse des plantes. Car les auxines induisent la formation de nouvelles racines, l'acide abscissique contrôle le taux de transpiration par fermeture des stomates, et induit l'expression de divers gènes liés au stress hydrique (Farooq *et al.*, 2009).

E. L'ajustement osmotique : est une stratégie fondamentale pour l'osmoprotection permettant de maintenir les relations hydriques sous sécheresse. Il implique l'accumulation de solutés compatibles (molécules / ions) osmotiquement actifs, y compris les sucres solubles, les alcools de sucre, la proline, la glycine bêtaïne, les acides organiques, le calcium, le potassium, les ions chlorures (Farooq *et al.*, 2009 ; Nadeem *et al.* 2019).

4.1.3. Gestion de la sécheresse

La génétique classique et les approches de sélection moléculaire, en particulier la cartographie QTL, ont mis en lumière l'héritage complexe de la tolérance à la sécheresse chez les plantes cultivées (Nadeem *et al.*, 2019). Par conséquent, les effets de la sécheresse peuvent être gérés par : la sélection et la production des génotypes végétaux les plus appropriés ainsi que par l'ajustement des pratiques agronomiques tels que la période de semis, densité de peuplement et gestion des sols (Farooq *et al.*, 2009). L'utilisation intégrée d'outils modernes tels que les approches omiques (génomique, protéomique, métabolomique) (Farooq *et al.*, 2009 ; Fang & Xiong, 2015 ; Hossain *et al.*, 2020) pourraient grandement améliorer notre compréhension actuelle des gènes candidats tolérants à la sécheresse et déchiffrer les réseaux de gènes complexes et diverses cascades de signalisation impliquées dans la tolérance à la sécheresse chez les légumineuses (Nadeem *et al.*, 2019). Enfin, l'utilisation des techniques innovantes comme la CRISPR / Cas9 GE, qui faciliteront

une compréhension plus approfondie et accéléreront efficacement le développement de légumineuses résistantes à la sécheresse ; ils peuvent atténuer les pertes de récoltes dues au changement climatique mondial dans les régions sèches du monde (Nadeem *et al.*, 2019 ; Hossain *et al.*, 2020).

4.1.4. Tolérance à la sécheresse chez la luzerne

La luzerne possède une bonne aptitude à résister à des conditions sèches grâce à son enracinement pivotant qui peut descendre jusqu'à 10 m de profondeur, ce qui lui donne une grande facilité d'adaptation et de tolérance (Mauriès, 1994 ; Annicchiarico *et al.*, 2015 ; Melis *et al.*, 2017 ; Hossain *et al.*, 2020). D'ailleurs, elle est capable d'atteindre un rendement élevé et persiste de longues périodes de sécheresse dans les environnements méditerranéens (Benabderrahim *et al.*, 2015b). De plus, les plants d'origine *sativa* sont plus résistants à un stress hydrique à la levée que les plants d'origine *falcata* (Mauriès, 1994). La luzerne pérenne a la capacité de devenir dormante en période de sécheresse, et de reprendre sa croissance lorsque les conditions deviennent favorables (Michaud *et al.*, 1988). La luzerne adopte une stratégie pour éviter la sécheresse par une augmentation de l'accumulation de cire à la surface des feuilles, ce qui réduit la perte d'eau (Zhang *et al.* 2005).

Mouradi *et al.* (2018) rapportent que l'osmoprimer des semences (traitement prégerminatif/d'amorçage osmotique) est une excellente technique pour améliorer la germination des semences et la croissance des plants de luzerne sous conditions de stress dû au déficit hydrique et à la salinité. Cette technique consiste à tremper des graines dans une solution osmotique comme du polyéthylène glycol (PEG), KNO₃, KH₂PO₄, CaCl₂, ZnSO₄, MgCl₂, MnSO₄, NaCl, NaSO₄, ou dans des composés organiques, à savoir les acides fumarique, succinique, malique et citrique.

Valiollahi *et al.* (2020) indiquent que de nombreux gènes liés au stress abiotique (LEAs, ZIPs, HSPs) et des facteurs de transcription (MYBs, ABFs, HSFs) ont été utilisés pour la sélection avec un certain succès chez des légumineuses à grains et fourragères.

Pour réduire les effets néfastes de la sécheresse et de la salinité, l'amélioration de la luzerne grâce au génie génétique et autres technologies innovantes, semble prometteuse. La technologie CRISPR-Cas récemment développée a déjà été utilisée dans la sélection de précision de nombreuses plantes, y compris pour la luzerne (Hossain *et al.*, 2020)

De plus, plusieurs interactions symbiotiques entre la luzerne et les rhizobiums tolérants ont montré une tolérance élevée à la sécheresse et à la salinité (Mouradi *et al.*, 2018).

Les gènes responsables de la tolérance à la sécheresse et/ou la salinité chez la luzerne, selon l'approche transgénique sont énumérés dans le Tableau 11. En effet, la production de luzerne transgénique tolérante à la sécheresse et à la salinité est faite par : la surexpression du gène vacuolaire AVP1 d'*Arabidopsis thaliana* (Bao *et al.*, 2009) ; la surexpression de gène GsZFP1 du soja sauvage (*Glycine soja*) (Tang *et al.*, 2013) ; l'expression du gène bactérien codA dans les chloroplastes (Li *et al.*, 2014) ; la surexpression du gène CsLEA de l'herbe du désert *Cleistogenes songorica* (Zhang *et al.*, 2016) ; l'expression du gène du tournesol HaHB11 (Cabello *et al.*, 2017). Aussi, la surexpression de miR156 améliore la tolérance à la sécheresse de la luzerne au moins partiellement en rendant SPL13 silencieux (Arshad *et al.*, 2017). Le transfert du gène Arabidopsis Enhanced Drought Tolerance 1 (AtEDT1) en luzerne, via l'Agrobacterium, a amélioré la croissance et la tolérance à la sécheresse de la luzerne dans des conditions de laboratoire et de terrain (Zheng *et al.*, 2017).

Tableau 11 : Gènes responsables de la tolérance à la sécheresse/salinité de la luzerne (*Medicago sativa* L.), par approche transgénique

Gène	Espèce d'origine	Effet remarqué	Référence
AVP1	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Améliore la tolérance à la sécheresse et à la salinité	Bao <i>et al.</i> (2009)
TaNHX2	<i>Triticum aestivum</i> L. (Blé tendre)	Améliore la tolérance à la salinité	Zhang <i>et al.</i> (2012)
GsZFP1	<i>Glycine soja</i> (Soja)	Confère une tolérance à la sécheresse	Tang <i>et al.</i> (2013)
codA	<i>Agrobacterium globiformis</i> (Bactérien)	Confère une tolérance à la sécheresse et à la salinité	Li <i>et al.</i> (2014)
SeNHX1	<i>Salicornia europaea</i> L.	Confère une tolérance à la salinité	Zhang <i>et al.</i> (2014)
CsLEA	<i>Cleistogenes songorica</i> (herbe désertique)	Améliore la tolérance à la sécheresse et à la salinité	Zhang <i>et al.</i> (2016)
SPL13	<i>Medicago sativa</i> L.	Améliore la tolérance à la sécheresse	Arshad <i>et al.</i> (2017)
HaHB11	<i>Helianthus annuus</i> (Tournesol)	Confère une tolérance à la sécheresse et à la salinité	Cabello <i>et al.</i> (2017)
AtEDT1	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Confère une tolérance à la sécheresse	Zheng <i>et al.</i> (2017)

4.2. Salinité

Les sols salins ont été définis comme des zones où la conductance électrique est supérieure à 4 dS/m, de plus, ce sont les ions Na⁺ et Cl⁻ qui causent les effets les plus néfastes sur la croissance des plantes (Alqahtani *et al.*, 2018).

Alqahtani *et al.* (2018) distinguent le stress osmotique du stress ionique qui n'affecte les plantes qu'à un stade ultérieur et qui a un effet moindre, en particulier à des niveaux de salinité modérés.

4.2.1. Effets de la salinité

Les dommages causés aux plantes par le stress salin sont généralement divisés en trois catégories : dommages à pH élevé, choc osmotique et stress cationique toxique (Hrbáčková *et al.*, 2020).

Au cours des dernières années, la luzerne est cultivée dans des environnements salins, ce qui a réduit sa production de biomasse et sa fixation symbiotique de l'azote atmosphérique (Stritzler *et al.*, 2018). Ainsi, le NaCl réduit la biomasse des pousses et des racines chez luzerne cultivée en zones arides et semi-arides (Ai-Ke *et al.*, 2009 ; Mouradi *et al.*, 2018).

Aussi, le stress salin provoque un déséquilibre de la nutrition minérale qui résulte d'une perturbation de l'absorption et du transport des éléments essentiels, où il a des effets négatifs sur le métabolisme et la photosynthèse des plantes, car les sels accumulés dans les cellules, en particulier les ions sodium (Na^+) et chlorure (Cl^-), sont toxiques (Alqahtani *et al.*, 2018 ; Mouradi *et al.*, 2018).

En utilisant NGS, Postnikova *et al.* (2013) ont démontré que environ 604 gènes modifiaient leur expression en réponse à la salinité, et parmi les plus touchés figuraient des gènes de fonction connue, tels que la DIHYDROFLAVONOL REDUCTASE (DFR), le facteur de transcription MYB59, le TRANSPORTEUR DE SUCRE ERD6-like 16 et l'INOSITOL-145-TRISPHOSPHATE 5-PHOSPHATASE (IP5P2).

4.2.2. Mécanismes d'adaptation à la salinité

Le mécanisme de tolérance à la salinité chez les plantes implique principalement l'ajustement osmotique et l'évitement des ions toxiques (Hamdia *et al.*, 2004).

Alqahtani *et al.* (2018) citent ces deux mécanismes : l'exclusion ionique qui consiste à l'exclusion des ions, en particulier Na^+ , des pousses qui vont maintenir ainsi des faibles concentrations d'ions toxiques ; et la tolérance tissulaire qui consiste à éviter l'accumulation de Na^+ et Cl^- dans le cytoplasme de la cellule végétale, en se servant de la vacuole, comme structure de stockage de ces ions toxiques (Alqahtani *et al.*, 2018).

4.2.3. Gestion de la salinité

Pour résoudre le problème de salinité, Alqahtani *et al.* (2018) proposent les approches suivantes : la modification des pratiques agricoles pour empêcher la salinisation des sols ; la mise en œuvre de programmes d'assainissement pour éliminer le sel des sols ; et des programmes visant à accroître la

tolérance au sel des plantes cultivées, grâce à la sélection traditionnelle, aux technologies de manipulation génétique ou à la domestication des plantes halophytes.

En outre, les approches transgéniques sont intéressantes dans la génération de plantes tolérantes à la salinité, d'ailleurs, plusieurs études (Tableau 11) le montrent pour la luzerne transgénique. Encore, l'inoculation de la luzerne avec la souche fixatrice d'azote résistante *Sinorhizobium meliloti* B401 pourrait la rendre tolérante à la salinité (Stritzler *et al.*, 2018).

4.2.4. Tolérance à la salinité chez la luzerne

Des luzernes transgéniques avec différents degrés de tolérance à la salinité ont été développées via l'incorporation de gènes étrangers d'origine d'autres plantes (Tableau 11). Parmi ces gènes qui améliorent la tolérance à la salinité (Tableau 11) : AVP1 d'*Arabidopsis thaliana* (Bao *et al.*, 2009) ; TaNHX2 de *Triticum aestivum* L. (Zhang *et al.*, 2012) ; codA dérivé d'une bactérie *Agrobacterium globiformis* (Li *et al.*, 2014) ; SeNHX1 de *Salicornia europaea* L. (Zhang *et al.*, 2014) ; CsLEA de *Cleistogenes songorica* (Zhang *et al.*, 2016) ; et HaHB11 de *Helianthus annuus* (Cabello *et al.*, 2017).

V. Interaction génotype x environnement et la notion de la stabilité du génotype

5.1. Interaction génotype x Environnement

L'adaptation au milieu, qui se traduit par des interactions génotype/milieu, est un objectif de sélection recherché pour un grand nombre d'espèces végétales et elle fait le plus souvent appel à l'analyse du rendement qui sera influencé par l'effet du génotype (G), l'effet de l'environnement (E), et l'effet de l'interaction (GE) (Brancourt-Hulmel, 2000 ; Yan, 2001). En effet, GE a été un axe de recherche des bioinformaticiens et des généticiens depuis le début des années 1900 (Yan & Tinker, 2006).

La présence de l'interaction génotype-environnement est une préoccupation majeure pour les sélectionneurs de plantes, car les effets GE peuvent : réduire les gains de la sélection compliquant l'identification des cultivars supérieurs, ainsi que leur recommandation (Eskridge, 1990 ; Annicchiarico, 2002) ; mais aussi, contribuer à l'instabilité temporelle et spatiale des rendements des cultures ce qui a un effet négatif sur les revenus des agriculteurs et, crée même l'insécurité alimentaire au niveau national dans le cas des cultures de base (Annicchiarico, 2002). Cependant, cela peut également offrir des opportunités, d'augmenter les rendements grâce à un matériel spécifiquement adapté à une zone donnée, ou limiter la réduction du rendement pendant les années défavorables grâce aux cultivars à rendement stable (Annicchiarico, 2002).

En effet, la culture de luzerne montre une réponse correspondante, génétiquement programmée, aux signaux environnementaux qui changent constamment sur le terrain, d'ailleurs, la germination des graines, l'allongement des bourgeons basaux et la floraison sont des exemples spécifiques de réponses modifiées par l'environnement (Fick *et al.*, 1988).

Dans la comparaison du matériel végétal dans un ensemble d'essais multi-environnementaux : le terme génotype fait référence à un cultivar ; l'environnement fait référence à l'ensemble des conditions climatiques, pédologiques, biotiques et de gestion d'un essai réalisé à une localité donnée en une seule année (culture annuelle) formant une combinaison localité-année ou sur plusieurs années (culture pérenne) (Annicchiarico, 2002).

5.2. Stabilité du rendement d'un génotype

Deux types de stabilité sont cités par plusieurs auteurs, à savoir, statique dont le génotype stable a tendance à maintenir un rendement constant dans tous les environnements ; et dynamique basée sur l'interaction génotype x environnement, où le génotype stable a une réponse de rendement dans chaque environnement qui est toujours parallèle à la réponse moyenne des génotypes testés (Lin *et al.*, 1986 ; Annicchiarico, 2002). De plus, Lin *et al.*, (1986) proposent un troisième type de stabilité où un génotype est considéré comme stable si le carré moyen (CM) de la résiduelle du modèle de régression sur l'indice environnemental est faible. Malheureusement, ces trois concepts ne fournissent pas toujours une image complète de la réponse et une conclusion unifiée, car un génotype peut être évalué comme stable selon le premier type, mais instable dans le deuxième type (Lin *et al.*, 1986). Plus récemment, Purchase (2000) a développé l'indice de stabilité AMMI (ASVi) basée sur les scores IPCA1 et IPCA2 du modèle AMMI pour chaque génotype. En effet, ce modèle, combine l'analyse de la variance ANOVA avec l'analyse en composantes principales (ACP), pour étudier GEI suivant la fonction: $Y_{ge} = \mu + \alpha_g + \beta_e + \sum \lambda_n \zeta_{gn} \eta_{en} + \theta_{ge}$ (Zobel *et al.*, 1988).

VI. Amélioration génétique de *Medicago sativa* L.

Depuis les années 1930, les sélectionneurs ont créé de très nombreuses variétés de luzerne à résistances multiples, offrant une résistance aux insectes, aux maladies et aux nématodes (Marble, 1993).

6.1. Sélection et obtention de variétés synthétiques

La luzerne est autotétraploïde, partiellement autostérile, naturellement pollinisée par les abeilles (Barnes *et al.*, 1988), et tolère relativement peu la consanguinité et est multipliée par voie végétative (bouturage de tiges). Chez la luzerne pérenne, l'hérédité des caractères d'intérêt agronomique est

complexe particulièrement par le fait qu'elle soit tétraploïdes et allogame (Rumbaugh *et al.*, 1988). De ce fait, les variétés les plus répandues chez les légumineuses fourragères allogames sont celles synthétiques (Acquaah, 2015).

Une variété synthétique de luzerne est développée par l'intercroisement naturel (polycross) de deux à plusieurs familles ou clones sélectionnées, puis les graines étant récoltées et replantées en générations successives (3 à 4 générations), dont la première étape, celle de l'intercroisement, est appelée la synthèse, et la première génération, est appelée synthétique 1 (Syn 1). Dans les générations avancées (Syn 2, Syn 3 et Syn 4), la variété synthétique est utilisée comme cultivar commercial, qui est donc composée d'individus apparentés et hétérozygotes, qui sont tous génétiquement différents (Rumbaugh *et al.*, 1988 ; Julier *et al.*, 2014 ; Gallais, 2015).

Le schéma de production de variétés synthétiques de luzernes est illustré dans la Figure 12.

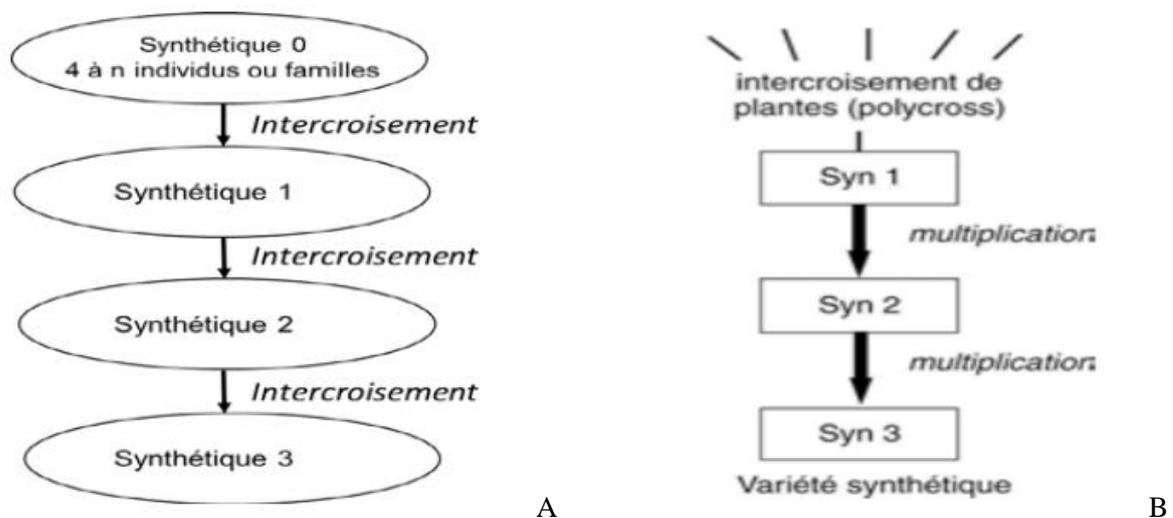


Figure 12 : Schéma de production d'une variété synthétique, dont la génération commerciale est une synthétique 3, voire 4, ayant donc subi 3 ou 4 générations d'intercroisement en polycross : A selon Julier *et al.* (2014) et B selon Gallais (2015).

6.2. Nouvelles méthodes d'amélioration

Le développement récent du génie génétique, devenu l'outil le plus puissant pour augmenter les rendements, est largement appliqué à l'amélioration de la luzerne, y compris l'amélioration de la résistance aux herbicides, la résistance aux stress biotiques et abiotiques, la production de nouveaux composés, l'amélioration du rendement en protéines industrielles et/ou pharmaceutiques et les sources d'énergie renouvelables ; car contrairement aux méthodes de sélection conventionnelles, la

technologie transgénique permet le transfert correct et précis d'un ou de quelques gènes souhaitables (Kumar *et al.*, 2018).

L'outil d'édition du génome (GE_genome editing) le plus innovant et le plus précis est CRISPR-Cas9 (clustered regularly interspaced short palindromic repeats -répétitions palindromiques courtes régulièrement intercalées) ; il permet la modification du génome des plantes cultivées de plusieurs manières : (i) en incorporant simplement une mutation aléatoire (insertion ou suppression) par une jonction d'extrémité non homologue pour perturber le(s) gène(s) ; (ii) en générant des mutations ponctuelles ciblées dans les gènes à l'aide d'éditeurs de base précis ; et (iii) par une insertion de gène entier utilisant la voie de réparation dirigée par homologie de la cellule (Hossain *et al.*, 2020). En outre, CRISPR / Cas9 sera l'avenir de la sélection végétale et ciblera la variation génétique de caractères quantitatifs complexes et sera, donc, l'outil ultime pour maintenir la sécurité alimentaire mondiale (Nadeem *et al.*, 2019).

La technologie CRISPR/Cas9 a été très récemment utilisée pour la mutagenèse ciblée sur la luzerne, où le gène SQUAMOSA PROMOTER BINDING PROTEIN-LIKE 9 (SPL9) a été inséré avec succès et des lignées transgéniques ont été produites (Gao *et al.*, 2018). Cependant, son efficacité globale sur le génome polyploïde de la luzerne était inférieure à celle d'autres génomes végétaux moins complexes et donc un raffinement supplémentaire de cette technologie sera nécessaire pour une édition plus efficace du génome dans cette plante (Gao *et al.*, 2018).

La nature tétraploïde a rendu la compréhension et l'amélioration de la luzerne par des méthodes de sélection traditionnelles plutôt difficiles, par conséquent, l'utilisation d'approches biotechnologiques, omiques et de génie génétique modernes pour son amélioration est une tâche très actuelle et souhaitable pour les chercheurs, cependant, l'utilisation d'outils biotechnologiques modernes est difficile car son génome complet n'a pas encore été publié (Hrbáčková *et al.*, 2020 ; Long *et al.*, 2022).

6.2.1. Sélection assistée par marqueurs

La sélection de la luzerne repose sur une sélection phénotypique, mais des alternatives incorporant la sélection assistée par marqueurs moléculaires pourraient accélérer son amélioration ; d'ailleurs, de nombreux QTLs liés aux caractères agronomiques ont été identifiés par cartographie et des gènes candidats, élucidés à partir d'espèces modèles, ont aidé à identifier certains locus potentiels dans la cartographie de la luzerne (Li et Brummer, 2012).

Un QTL (Quantitative Trait Locus, ou locus de caractère quantitatif) est une région génomique de taille variable associée à la variation d'un caractère quantitatif. Ainsi, les analyses QTL visent à identifier le nombre de régions d'un génome qui contribuent à un caractère donné, leur position dans le génome et leurs effets. Cette analyse met statistiquement en relation la variation génétique le long du génome et la variation phénotypique observée dans des croisements expérimentaux (pedigree), dans le but d'identifier une association statistique significative entre génotype et phénotype (Tagu *et al.*, 2018). La variation génétique se fait par l'utilisation des marqueurs moléculaires. Généralement, le polymorphisme de séquence de l'ADN se résume à deux types de différences entre individus : des substitutions nucléotidiques à un locus donné, que l'on appelle « Single-Nucleotide Polymorphisms » (SNPs), et des insertions-délétions « IDP ou indels » qui sont des ségments plus ou moins longs, allant d'une base à plusieurs mégabases ; où les microsatellites « Simple-Sequence Repeats (SSR) » sont un cas particulier des IDP (Falque, 2011).

Plusieurs études sur la luzerne ont identifiés des QTLs associés à des caractères agronomiques complexes, qui peuvent être exploités par la sélection assistée par marqueur afin d'accélérer l'amélioration de cette espèce.

Pecetti *et al.* (2021) ont phénotypés et génotypés 400 descendants de luzerne pour la tolérance au pâturage et six autres caractères morpho-physiologiques, et donc 27 QTLs ont été détectés, de plus, l'analyse des QTL a largement confirmé l'association entre la tolérance au pâturage, le port non dressé et la dormance automnale. A l'aide de cartes de liaison génétique à haute résolution, 36 QTLs significatifs associés à la repousse printanière de la luzerne ont été identifiés (Jiang *et al.*, 2022).

Une cartographie QTL basée sur les données phénotypiques a été effectuée sur une population de luzerne F1, pour évaluer plusieurs caractères liés à la qualité fourragère, où 83 QTLs ont été identifiés dont 47 QTLs interagissaient significativement avec l'environnement et 12 QTLs étaient associés à plus d'un caractère (Yang *et al.*, 2021).

Zhang *et al.* (2019) ont construit une carte de liaison à haute densité à l'aide de marqueurs SNP générés par séquençage d'ADN associé au site de restriction (RAD-seq), et un total de 21 QTL ont été identifiés pour le rendement et les composantes du rendement, dont cinq pour le rendement, cinq pour la hauteur de la plante, cinq pour le nombre de branches et six pour le diamètre des pousses.

Les locus liés au rendement identifiés pourraient être utilisés pour valider leur utilité dans le développement de marqueurs pour la sélection assistée afin d'améliorer le potentiel de rendement de la luzerne.

6.2.2. Sélection génomique

La sélection génomique est une approche de sélection moderne, basée sur des marqueurs qui couvrent l'ensemble du génome, qui gagne de la popularité et devient le choix de nombreux

sélectionneurs pour traiter les caractères complexes comme la tolérance à la sécheresse et le rendement qui sont des caractères polygéniques contrôlés par de multiples gènes avec de petits effets, dans laquelle les données génotypiques sont utilisées pour prédire des caractères complexes avec une précision suffisante pour permettre la sélection, bien que la sélection génomique (GS) n'est possible que lorsque de nouvelles méthodes statistiques appropriées sont disponibles (Jiang, 2015 ; Varshney, 2017). En fait, l'avantage significatif de GS est la capacité de sélectionner des individus supérieurs dans une population à des stades très précoces d'un cycle de reproduction en fonction de leur génotype, par rapport à la réalisation d'essais de phénotypage longs/coûteux avant chaque cycle de sélection (Medina *et al.*, 2021). Cependant, pour la luzerne, les efforts de recherche de GS se sont fortement concentrés sur l'évaluation de la précision des prédictions de plusieurs modèles paramétriques et non paramétriques afin de développer des stratégies robustes pour développer des cultivars à rendement élevé (Medina *et al.*, 2021).

Récemment, des technologies de séquençage à haut débit (génotypage par séquençage, GBS) pour identifier les marqueurs SNP (Single Nucléotide Polymorphism), suivi de l'utilisation d'un modèle statistique (Genome Wide Association Studies, GWAS) pour trouver des associations entre les SNP découverts et les caractères d'intérêt dans la luzerne, ont été utilisées (Hawkins et Yu, 2018). Par ailleurs, les chercheurs recherchent des méthodes de génotypage qui optimisent l'équilibre entre le coût, la taille de l'échantillon et le nombre de SNP, car dans GWAS et GS, le nombre d'individus dans une population est crucial pour maximiser la puissance statistique (Medina *et al.*, 2021). De plus, il est nécessaire d'explorer de nouvelles méthodologies pour améliorer les outils moléculaires et bioinformatiques pour l'application de GS dans les cultures polyploïdes, car un séquençage à couverture élevée est nécessaire pour estimer avec précision le dosage de l'allèle, ce qui augmente le coût du génotypage (Medina *et al.*, 2021).

Étant donné que les cultivars de luzerne sont des populations synthétiques génétiquement larges, il a été difficile de comprendre les mécanismes génétiques par lesquels les facteurs environnementaux affectent la croissance, le développement et la production des plants de luzerne, de ce fait l'utilisation d'outils moléculaires tels que la sélection assistée par marqueurs (MAS) et des approches génomiques telles que GBS et GS peuvent être appliquées pour accélérer le processus de la sélection de la luzerne (Yu *et al.*, 2021).

A. « *Single-Nucleotide Polymorphism* » SNP

Jiang (2015) définit le marqueur SNP (Single Nucleotide Polymorphism) comme une base nucléotidique unique différente entre deux séquences d'ADN, qui fournit la forme la plus simple de marqueurs moléculaires ; les SNP sont donc devenus des marqueurs génétiques potentiels très

attractifs dans les études génétiques et de la sélection et sont de plus en plus utilisés dans les études d'association (GWAS) à l'échelle du génome chez les plantes. En effet, ces polymorphismes génétiques sont extrêmement courants, avec en moyenne un SNP pour 100 à 1000 bases considérées, et donc le nombre de SNP peut facilement atteindre plusieurs millions selon la taille du génome (Tagu *et al.*, 2018).

B. NGS

Le séquençage de nouvelle génération (NGS) offre des opportunités de comprendre la constitution et le comportement des génomes végétaux, ainsi il permettra : de faciliter l'étude du génome et sa relation avec le phénotype pour des caractères complexes ; de découvrir des gènes d'importance agronomique qui régulent le rendement et la tolérance aux stress biotiques et abiotiques ; de générer d'énormes quantités de données séquencées de manière rentable et disponible en ligne ; et la découverte de marqueurs fonctionnels (Singh *et al.*, 2015). Par conséquent, il est nécessaire de coupler les approches de biologie moléculaire et d'informatique pour pouvoir gérer des quantités immenses de données issues du séquençage de génome de plusieurs millions de bases, car l'objectif final est d'obtenir la séquence de chacun des chromosomes constituant le génome haploïde de l'espèce (Tagu *et al.*, 2018).

Le principe de base du séquençage du NGS est illustré par la Figure 13. Il passe par quatre étapes qui sont :

- **Extraction et fragmentation de l'ADN** : l'ADN de l'espèce à séquencer est extrait, puis découpé en fragments de quelques centaines de base, de façon aléatoire ;
- **Séquençage des fragments** : les résultats qui sortent d'un séquenceur sont des fichiers de lettres correspondant à la succession des bases de l'ADN, appelés «lectures» (reads en anglais). Chaque lecture correspond à la séquence d'un fragment d'un chromosome à un locus donné. La technique « NGS » génère des milliards de lectures (Figure 13) ;
- **Alignement des séquences pour assemblage** : Ces approches de reconstructions se font par la bio-informatique grâce à des outils développés spécifiquement pour réaliser l'assemblage des génomes. Ces lectures, après traitement informatique, deviennent des « séquences » pour les biologistes, qui sont en plusieurs copies ;
- **Annotation** : c'est la description du génome assemblé, ce qui permet de prédire des séquences de gènes codant des protéines, des gènes codant des ARN non codants, des séquences répétées, des transposons... C'est une tâche rarement terminée et qui implique le travail de grandes communautés internationales, comme pour le projet ENCODE qui vise à déterminer dans le génome humain tous les éléments fonctionnels.

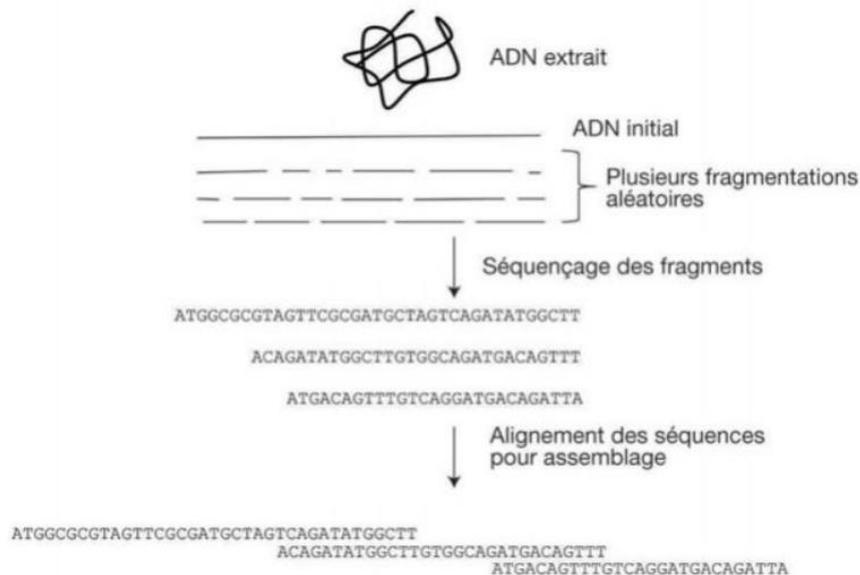


Figure 13 : Principe du séquençage NGS (Tagu *et al.*, 2018)

C. Génotypage par séquençage (GBS)

Le génotypage par séquençage (GBS, pour Genotyping By Sequencing) est l'une des méthodes du NGS, techniquement simple et peu coûteuse puisque elle nécessite moins d'étapes de purification de l'ADN (environ 80 € par échantillon, réalisation des banques et séquençage compris), nécessitant la construction de banques (libraries en anglais) pour le séquençage à haut débit, et elle est applicable aux espèces présentant une forte diversité génétique (Falque, 2011 ; Tagu *et al.* 2018). Cette approche a été décrite par Elshire *et al.* (2011) et appliquée pour la première fois au maïs, qui a un génome de grande taille (2,3 Gb) et qui présente un taux de mutation au moins 10 fois plus important que celui de l'homme.

Falque (2011) a cité plusieurs méthodes de GBS classées selon de nombre d'individus à génotyper et le nombre de marqueurs à utiliser (Figure 14). Alors, selon l'ampleur des programmes et l'information de séquence disponible dans les bases de données, les microsatellites, le TaqMan, la PCR allèle-spécifique compétitive (KASPar) ou l'Illumina VeraCode pourront constituer des choix adaptés, permettant de génotyper de 1000 à plus de 3000 individus avec 10 à 1000 marqueurs (Figure 14). En revanche, dans les approches de génétique d'association qui vise à scanner le génome entier à la recherche de polymorphismes associés avec les phénotypes d'intérêt, il est nécessaire de génotyper un très grand nombre de marqueurs (Figure 14), donc les puces de génotypage de type Affymetrix ou Illumina Infinium sont actuellement privilégiées.

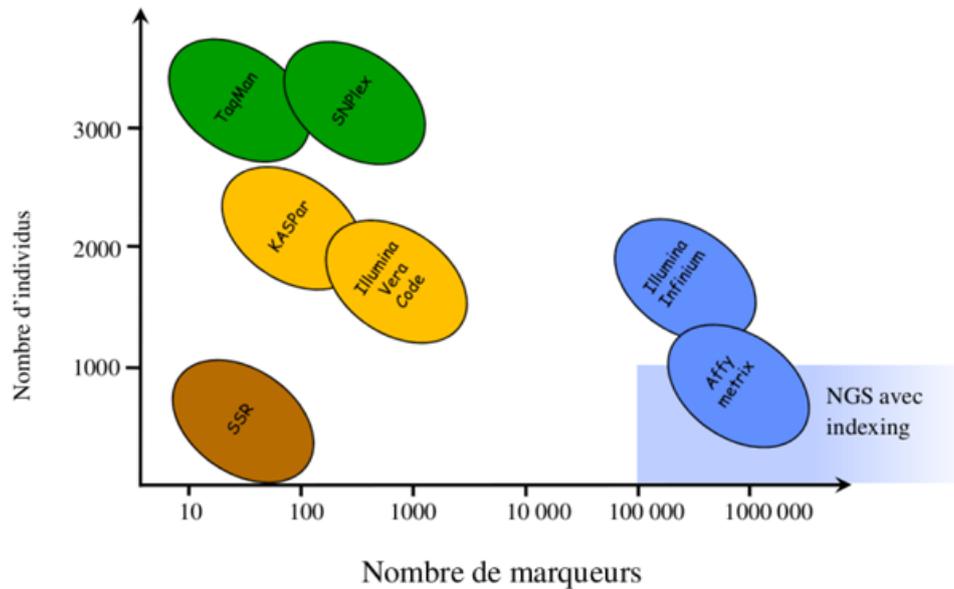


Figure 14 : Classification des principales méthodes de génotypage en terme de nombre d'individus à génotyper et de nombre de marqueurs (Falque, 2011).

D. Approche GWAS

Contrairement à l'analyse QTL, qui est expérimentale, l'approche GWAS (Genome-Wide Association Study, étude d'association pangénomique) est observationnelle. Cette méthode repose sur la recherche de corrélations significatives entre la fréquence de certains allèles à un locus et le caractère phénotypique étudié sur un échantillon d'individus (Tagu *et al.*, 2018).

Le principe de cette approche (Figure 15) consiste à :

- Identifier un grand nombre d'individus différents pour le caractère phénotypique étudié par exemple des individus présentant une certaine maladie et des individus sains, étape 1 sur la Figure 15 ;
- Génotyper chacun de ces individus sur un très grand nombre de marqueurs moléculaires (SNP) (étape 2 sur la Figure 15) ;
- Pour chaque marqueur moléculaire, mesurer l'association statistique entre les différents allèles et le caractère phénotypique étudié. Les SNP qui montrent des fréquences alléliques différentes entre le groupe des individus malades et non malades pourront être identifiés comme statistiquement associés à la maladie. Et les résultats sont représentés graphiquement par un Manhattan plot (étape 3 sur la Figure 15).

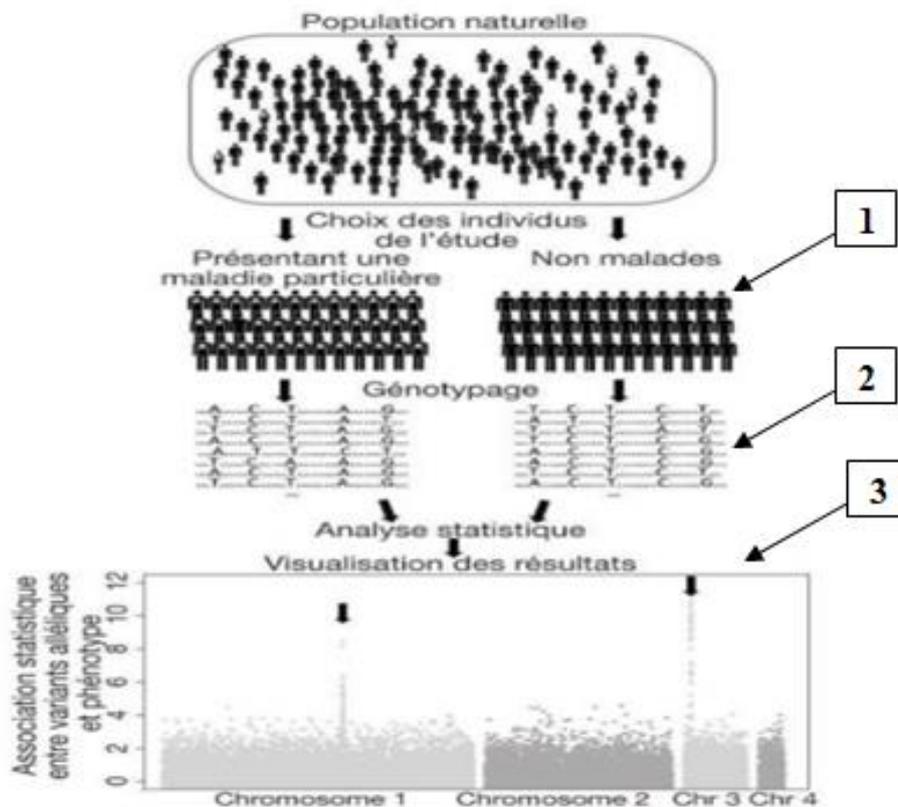


Figure 15 : Principe de l'approche GWAS (Tagu *et al.*, 2018), étape 1 : Identification d'un grand nombre d'individus différents pour le caractère phénotypique étudié ; étape 2 : Génotypage des individus étudiés ; étape 3 : Analyse statistique et visualisation des résultats par un Manhattan plot.

Long *et al.* (2022), ont réussi l'assemblage de 88,39 % du génome estimé d'un cultivar de luzerne largement cultivé en Chine « Zhongmu-4 », de plus ils ont étudié les associations de marqueurs SNP aux caractères agronomiques de 220 accessions de luzerne collectées sur les six continents, ces dernières ont été génotypées par GBS. Les analyses GWAS ont identifié 101 SNP associés à 27 caractères agronomiques, et deux gènes candidats sont prédits comme corrélés à la dormance automnale et à la réponse au sel. En effet, ils ont identifié 34 922 gènes alléliques, 146 704 gènes codant pour les protéines, et 111 075 marqueurs SNP.

VII. Semences de luzerne

7.1. Types de variétés commercialisées

Selon Abdelguerfi et Laouar (2002), les variétés de luzerne sont classées en trois types : « méditerranéen » qui regroupe les variétés à repos végétatif peu marqué, production quasi continue, sensibles au froid et cultivées dans les régions à hiver doux ; « intermédiaire » qui regroupe les variétés à repos végétatif plus ou moins marqué, moins sensibles au froid et cultivées

dans les régions à hiver peu froid à frais ; « nordique » qui regroupe les variétés à repos végétatif très marqué, résistantes au froid et cultivées dans les régions à hiver froid à très froid.

Selon GNIS (2020), le choix d'une variété est en fonction de la localisation géographique, de plus d'autres critères peuvent être pris en considération, à savoir la résistance à la verticilliose, (nuit au rendement et la qualité de la luzerne) ; la résistance aux nématodes (le seul remède est l'utilisation de variétés résistantes) ; la résistance à la verse (engendre des pertes de rendement), aussi la bonne teneur en protéines, pour les luzernes destinées à la déshydratation, est recherchée (MAT>20%).

Par exemple, en France, les deux types les plus utilisés sont « Flamand » qui convient aux régions Nord et se caractérise par une productivité élevée, résistance au froid mais supporte difficilement les coupes fréquentes, et « Provence » qui est adapté à la zone méditerranéenne, qui se caractérise par une production importante en été-automne, une repousse rapide après les coupes, une tolérance aux coupes fréquentes, une bonne réponse à l'irrigation, mais sensible au froid (Mauriès, 1994 ; GNIS, 2020).

La dormance automnale (fall dormancy=FD) est un indicateur important de la résistance de la luzerne à l'hiver, et historiquement, il a été intéressant d'utiliser des cultivars moins dormants à l'automne dans les régions aux hivers doux (Wang *et al.*, 2009). Par exemple, dans les environnements méditerranéens, caractérisés par des hivers doux, l'utilisation des variétés peu dormantes (note de dormance de 6-11) est exigée, comme c'est proposé dans le Tableau 12 (Melis *et al.*, 2017). En effet, la dormance automnale des cultivars de luzerne est la capacité à grandir en automne, et elle est représentée par des notes de 1 à 11 qui correspond à la classe de dormance automnale utilisée par le Certified Alfalfa Seed Council (CASC), ainsi donc les cultivars les plus dormants seront très décombres à FD=1(ayant la plus petite hauteur de plante à l'automne), et les cultivars les moins dormants seront droits et hauts à FD=11 (ayant la plante la plus haute à l'automne) (Teuber *et al.* 1998). Les cultivars de luzerne peuvent être décrits comme dormants (FD= 1 à 3), semi-dormants (FD= 4 à 6), non dormants (FD=7 à 9), et extrêmement non dormant (FD=10-11) (Brummer *et al.*, 2002).

Les semences produites à partir de populations locales sont encore utilisées, par exemple, Marble (1993) a noté qu'au Proche-Orient, les semences en vente sur les marchés locaux n'ont pas de généalogie pour garantir leur qualité et sont en quantités insuffisantes, par contre, leurs rendements sont bons, voire même meilleurs que ceux des variétés importées. Mais bien sûr, l'utilisation de semences certifiées garantit la qualité germinative des graines, de plus, elles sont exemptes de maladies et de parasites (cuscute) et ont une pureté spécifique élevée (Melis *et al.*, 2017).

Tableau 12 : Variétés recommandées pour le milieu méditerranéen (Melis *et al.*, 2017)

Nom	Dormance automnale	Caractéristiques	Obtenteur
Sardi 10	10	Bien adaptée aux conditions méditerranéennes sauf sols salins	Heritage Seeds, Australie
Sriver	9	Adaptation moyenne aux environnements secs	Seedmark, Australie
Bulldog 805	8	Bonne adaptation à la sécheresse	Athens Seed Company
Ameristand 801S	8	Adaptation aux sols salins et à la sécheresse	America's Alfalfa
Barmed	7,2		Barenbrug Holland BV
Zénith	7,1		Ets Florimond Desprez, France
Verdor	6,9		Barenbrug Holland BV
Dorine	6,5	Tolérance à la verse	Barenbrug Holland BV

Les semences produites à partir de populations locales sont encore utilisées, par exemple, Marble (1993) a noté qu'au Proche-Orient, les semences en vente sur les marchés locaux n'ont pas de généalogie pour garantir leur qualité et sont en quantités insuffisantes, par contre, leurs rendements sont bons, voire même meilleurs que ceux des variétés importées. Mais bien sûr, l'utilisation de semences certifiées garantit la qualité germinative des graines, de plus, elles sont exemptes de maladies et de parasites (cuscute) et ont une pureté spécifique élevée (Melis *et al.*, 2017).

L'Algérie importe annuellement des quantités massives de graines fourragères, notamment du trèfle et de la luzerne, pour combler le déficit fourrager enregistré, engendrant ainsi des coûts élevés à l'importation (Issolah, 2008). En 2007, pour une même quantité de 64 000 kg de semences de luzerne et de trèfle, les coûts se sont élevés à 199 810 USD et 92 822 USD, respectivement (Issolah, 2008). De ce fait, le secteur semencier constitue actuellement une entrave sérieuse quant à la mise en œuvre des programmes de développement, dû à l'absence de stratégie claire en matière de production de semences fourragères et pastorales (Issolah, 2008).

Actuellement les variétés introduites commercialisées en Algérie sont surtout des Etats-Unis et de l'Italie, on cite la variété américaine « Diamant » commercialisée par ACI (<https://www.aci-algerie.com/luzerne/>), caractérisée par un indice de dormance de 9 ; la variété américaine « Speed » avec indice de dormance de 9 et italienne « Rapido » avec indice de dormance de 8, commercialisées par CPH-Agriculture (<https://www.cph-agro.com/categorie-produit/semence/>).

7.2. Production de semences

Les premiers pays exportateurs de la semence de luzerne en 2016 sont : les Etats Unis (446,5 tonnes), Italie (200 tonnes), l'Inde (40 tonnes), l'Australie (21,5 tonnes), la Roumanie (20 tonnes) et la France (14,16 tonnes) (UN Comtrade, 2020). En Europe, la France et l'Italie sont les deux plus gros producteurs de semence de luzerne (Mauriès, 1994).

En Algérie, la plupart des anciens cultivars de luzerne d'origine ont été remplacés par des cultivars étrangers, sauf dans les oasis ; à cause de la domination des agriculteurs français pendant de nombreuses années (période coloniale), les cultivars étaient principalement de France « Provence » mais incluent désormais l'introduction de l'Espagne, l'Italie et le sud-ouest des Etats-Unis (Michaud *et al.*, 1988).

L'ITGC a conduit des essais en irrigué sur quelques variétés de luzerne (Pioneer, Livia, Mireille Cina, Lutece, Cuf 101) qui ont donné des rendements intéressants mais leur application à grande échelle a été freinée par le manque de semences (INRAA, 2006). Aussi, avant les années 2000, les variétés italiennes « MOAPA » et « Triade » étaient commercialisées par l'OAIC (Abdelguerfi et Laouar, 2013).

Aujourd'hui en Algérie, le marché des semences de luzerne est occupé par des variétés américaines et italiennes importées. Par contre, les variétés locales de la luzerne pérenne, surtout les plus connues (Tamacine et Tamentit), sont toujours disponibles au niveau des oasis, car les agriculteurs locaux produisent leurs propres semences et les commercialisent à un prix assez intéressant suite à la forte demande de ces variétés bien adaptées (Abdelguerfi et Laouar, 2013).

Selon le travail de Bouzaid (2020), les cultivars locaux de luzerne sont originaires du Sud algérien puisque cette culture, depuis longtemps, est très ré pondue dans les oasis. D'ailleurs, Chaabena *et al.* (2011) et Bouguerra et Saker (2018), avaient, mentionné plusieurs populations locales, toutes originaires du Sud algérien, qui sont : Aoulef, Blidet Amour, Chott, El-Meniaa, Ghardaïa, Guemar, Hassi Ben Abdellah, Hassi Laabid, In-Salah, Janet, Lioua, Meggarine, Nezla, Ouargla, Sidi Youcef, Taghit, Tamentit, Temacine, Timimoune et Toujjine.

Chapitre II : Etude de l'Interaction Génotype-Milieu chez seize cultivars de luzerne sous deux régimes hydriques (irrigué et pluvial) dans deux sites contrastés (Alger et H'Madna)

I. Introduction

L'augmentation de la fréquence et de l'ampleur des sécheresses et des vagues de chaleur est attendue dans la plupart des régions méditerranéennes en raison des changements climatiques (Alessandri *et al.*, 2014 ; Volaire *et al.*, 2014). De plus, la sécheresse de la fin du printemps et de l'été est le stress dominant dans ces zones (Annicchiarico *et al.*, 2011), qui a un impact considérable sur la production agricole ; elle est considérée comme la cause principale des chutes de rendements agricoles en Algérie (Bellague *et al.*, 2016). Outre le déficit en eau, la salinisation est également fréquente dans les milieux méditerranéens (Fagnano & Maggio, 2018). Dans les zones semi-arides et dans les régions prédisposées à la sécheresse, la salinité des sols est accentuée soit parce que les terres sont naturellement salines (Small, 2010), soit parce qu'elles sont irriguées par l'eau saline (Pecetti *et al.*, 2013). En effet, le stress salin est un problème majeur pour l'agriculture, affectant la croissance des plantes et réduisant le rendement des cultures, générant ainsi des impacts importants sur l'économie des pays (Numan *et al.*, 2018).

La luzerne est une culture fourragère qui peut prolonger la saison de croissance jusqu'au début de l'été, voire jusqu'à l'automne dans les milieux méditerranéens secs (delPozo *et al.*, 2017), bien que le manque de précipitations et les températures extrêmes soient les limites les plus importantes pendant la saison de croissance du fourrage (Abdelguerfi et Laouar, 2002). Il existe, cependant, des variations dans l'espèce, aussi bien pour l'adaptation à des températures basses ou élevées (Annicchiarico *et al.*, 2015) que pour des conditions arides, grâce à des mécanismes morpho-physiologiques (Annicchiarico *et al.*, 2013 ; Annicchiarico *et al.*, 2015). Bien que jugée modérément sensible à la salinité des sols (Pecetti *et al.*, 2013), la luzerne est souvent confrontée au stress salin dans les zones méditerranéennes sèches (Chedjerat *et al.*, 2016). Des variations de tolérance à ce stress peuvent être constatées au stade de la germination (Benabderrahim *et al.*, 2011).

Un des premiers objectifs de la sélection variétale a été et est toujours l'augmentation des rendements pour répondre aux besoins alimentaires des populations toujours croissantes. Les méthodes et les approches de sélection ont évolué dans le temps et sont actuellement très

orientées vers la recherche de variétés adaptées et résilientes aux variations climatiques. Le sélectionneur ne peut occulter l'effet de l'environnement et ne peut pas n'en plus prétendre prendre en considération toute la diversité des conditions de sol et de climat dans la création variétale. Dans les conditions réelles de production, déterminer le degré de persistance des variétés dans diverses conditions pédoclimatiques et établir l'éventail d'adaptation des principales variétés est une démarche acceptable qui a fait ses preuves (Marble, 1993). En raison de l'imprévisibilité et de la rareté des précipitations ainsi que du manque d'eau d'irrigation dans les régions semi-arides, voire même au niveau de celles sub-humides, le développement de cultivars de luzerne résistants à la sécheresse est un objectif de sélection clé pour la durabilité de cette culture stratégique surtout pour l'alimentation animale (Hossain *et al.*, 2020 ; Valiollahi *et al.*, 2020).

L'interaction génotype par l'environnement (GE) était et est toujours un problème important et difficile pour les sélectionneurs de plantes et les agronomes engagés dans des tests de performance, car elle réduit l'association entre les valeurs phénotypiques et génotypiques (Mahmodi *et al.*, 2011). Étudier l'adaptation d'un génotype revient donc à analyser l'interaction génotype x milieu (Brancourt-Hulmel, 2000), à l'aide de techniques appropriées, afin d'explorer les opportunités et les inconvénients potentiels (Annicchiarico, 2002). Ce qui demande une collaboration continue entre les généticiens, les agronomes et les bio-informaticiens (Brancourt-Hulmel, 2000).

Idéalement, la stratégie de sélection des variétés végétales performantes devrait être fondée sur la connaissance scientifique du matériel végétal et de sa relation avec les environnements de culture dans la région cible (Annicchiarico, 2002 ; Moghaddam *et al.*, 2015). Par conséquent, la prise de conscience croissante de l'importance des interactions GE a conduit à l'évaluation habituelle des génotypes de cultures dans des essais multi-environnements pour la recommandation de cultivars supérieurs aux agriculteurs ou pour la sélection d'un matériel génétique élite (Yan *et al.*, 2001 ; Annicchiarico, 2002 ; Yan & Tinker, 2006). Notant qu'un "environnement de test" fait référence à une combinaison d'un site (localité) et d'une année de culture (Yan *et al.*, 2001), et il est défini par Annicchiarico (2002) comme étant l'ensemble de conditions climatiques, pédologiques, biotiques et de gestion d'un essai individuel réalisé en un lieu donné sur une année pour les cultures annuelles ou sur plusieurs années pour les cultures pérennes.

Les méthodes les plus utilisées pour étudier les interactions génotype x milieu sont fondées sur des analyses statistiques dérivées de la régression (Brancourt-Hulmel, 2000). Gauch *et al.* (2008) citent deux modèles statistiques importants pour l'analyse des données des essais de rendement : effets principaux additifs et interaction multiplicative (AMMI) et effets principaux du génotype et interaction génotype × environnement (GGE).

Le modèle AMMI subdivise la variation globale en effets principaux du génotype (G), effets principaux de l'environnement (E) et effets des interactions génotype × environnement (GEI), considérant ainsi séparément ces trois sources de variation (Gauch, 2006 ; Gauch *et al.*, 2008). Ceci est particulièrement pertinent dans les programmes de sélection végétale où la GEI est une composante importante à traiter (Barrios *et al.*, 2017).

Le modèle "GGE" fait référence à l'effet principal du génotype (G) plus l'interaction génotype x environnement (GE), qui sont les deux sources de variation pertinentes pour l'évaluation des cultivars (Yan *et al.*, 2000). L'utilisation de l'analyse GGE biplot (G + GE) par les sélectionneurs de plantes et d'autres chercheurs agricoles a considérablement augmenté au cours des dernières années pour l'analyse de données des essais multi-environnements (MET) (Yan *et al.*, 2007). En effet, le concept de GGE provient de l'analyse des essais multi-environnements (METS) des cultivars, et il est un excellent outil graphique (Yan, 2001), et un outil statistique important pour la recherche en phytogénétique et en agronomie ; il facilite l'évaluation visuelle des génotypes et des environnements (Yan *et al.*, 2001 ; Yan & Tinker, 2006).

Donc, les programmes de sélection de la luzerne et le choix des variétés devraient être principalement déterminés par les conditions environnementales prévalant dans la ou les zones cibles, d'où le choix de notre étude dans ce chapitre.

L'objectif de ce chapitre est d'évaluer l'effet de l'interaction génotype-milieu chez 16 cultivars de luzerne dans deux sites contrastés d'Algérie. L'un correspond à un étage sub-humide et non salin (Alger) et l'autre appartient à l'étage semi-aride et salin (H'Madna). Les essais menés dans chaque site ont été conduits sous deux régimes hydriques (pluvial et irrigué). Le but de cette expérience étant de choisir les cultivars les plus adaptés et les plus stables, à l'aide d'application de deux modèles statistiques, AMMI et GGE afin de visualiser graphiquement les performances et la stabilité des rendements en matière sèche chez 16 génotypes de luzerne testés dans 4 environnements. Aussi, c'est pour définir le ou les cultivars élites qui peuvent être introduit dans les sélections futures en vue de créer des

variétés tolérantes aux stress abiotiques (déficit hydrique et salinité particulièrement). Cette étude a été réalisée dans le cadre du projet européen PERMED (INCO-2004-509140) sous le thème : « Amélioration des plantes fourragères locales pour la durabilité des systèmes agricoles méditerranéens » dont le coordinateur algérien est Pr. Abdelguerfi Aïssa (ENSA).

II. Matériels et méthodes

1. Les conditions expérimentales

1.1 Site d'expérimentation

Deux essais ont été mis en place. Le premier essai a été installé à la station expérimentale de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique (ENSA) d'Alger, située à El Harrach (Alger). Cette station se situe à une altitude de 50 m, une latitude de 36° 45' Nord et une longitude de 30° 8' Est et se caractérise par un climat méditerranéen à étage bioclimatique sub-humide à hiver doux et pluvieux et a été chaud et sec. Le deuxième essai a été placé à la station expérimentale de l'Institut de Recherche Agronomique d'Algérie (INRAA) de H'Madna (wilaya de Relizane). Il est à 250 km plus loin du premier essai et se trouve sur une altitude de 48 m avec une latitude de 35°54' Nord et une longitude de 0°46' Est. Ce site est caractérisé par un climat méditerranéen à étage bioclimatique semi-aride à tendance aride avec un hiver froid et un été très chaud et sec, et présente des sols salins. Les deux essais sont positionnés dans des plaines, la Mitidja et le bas Cheliff, respectivement pour le premier et le deuxième essai.

1.2 Conditions pédoclimatiques

Compte tenu de la nature pérenne de la luzerne, les essais ont été suivis pendant 4 années consécutives. Toutes les données pédoclimatiques des deux sites, sont résumées dans le Tableau 13 et Figures 16 et 17. Les données représentées dans le Tableau 13 sont des moyennes des quatre années de suivi de la culture. Il ressort que le site d'Alger, situé dans une plaine littorale (Mitidja), est caractérisé par : un climat sub-humide avec une précipitation annuelle moyenne de 658 mm ; des températures moyennes annuelles minimales de 5,3°C à maximales de 31,6°C ; tandis que le site de H'Madna, situé dans une plaine d'intérieure (Bas Cheliff), est caractérisé par : un climat semi-aride à aride avec une précipitation annuelle moyenne de 273 mm ; des températures moyennes annuelles minimales de 9,2°C à maximales de 30,7°C. Le sol est d'une texture argilo-limoneuse pour les deux sites. Par contre, la

conductivité électrique du sol mesurée dans des échantillons pris entre 0-30 cm de profondeur, montre un vrai contraste entre les deux sites, puisque le site H'Madna révèle une salinité élevée avec $5,6 \text{ dS m}^{-1}$, alors qu'à Alger elle est à $1,9 \text{ dS m}^{-1}$.

Les détails de données climatiques moyennes mensuelles des 4 années des deux sites de notre expérimentation se trouvent en annexe 2 et 3.

Au niveau du site d'Alger, la Figure 16 représente les diagrammes Ombrothermiques des 4 années d'expérimentation de 2004 à 2008. Le cumul des précipitations annuelles par ordre décroissant est de 757,2 mm, 629,8 mm, 626,1 mm, et 618 mm qui correspond respectivement aux années 2007-2008, 2005-2006, 2004-2005 et 2006-2007 (Annexe 2).

Ces diagrammes Ombrothermiques montrent des périodes humides et sèches similaires en durée mais différentes en mois, sur l'ensemble des années de suivi de l'expérimentation. Les périodes humides s'étalent sur 4 à 5 mois, alors que les périodes sèches sont de 7 à 8 mois.

Les périodes humides sont respectivement pour la 1^{ère} et la 2^{ème} année, de novembre à mars (5 mois), et de novembre à février (4 mois). Tandis que pour la 3^{ème} et 4^{ème} année respectivement, les périodes humides sont de décembre et février à avril (4 mois), et octobre à décembre et mars et mai (5 mois). Généralement, les périodes humides débutent fin d'automne et s'étalent au début du printemps pour les 4 années. Cependant, pour la 3^{ème} et la 4^{ème} année, des mois d'hiver secs (janvier et février) sont notés. Les mois les plus pluvieux sont novembre pour la 2^{ème} et la 4^{ème} année, février pour la 1^{ère} année, et décembre pour la 3^{ème} année.

Les périodes sèches commencent en général de fin de printemps à fin d'automne pour les 4 ans d'essais. Elles sont respectivement pour les 4 années consécutives, de septembre et octobre et d'avril à août (7 mois), septembre et octobre et de mars à août (8 mois), septembre à novembre et mai à août (8 mois), septembre et janvier-février et juin-août (7 mois).

Le mois le plus froid est janvier pour les 3 premières années, et les températures varient entre 7 et 12°C , alors que février est le plus froid pour la dernière année avec une température de $11,5^{\circ}\text{C}$ (Annexe 2).

Le mois le plus chaud est juillet avec une température de $31,3^{\circ}\text{C}$ pour la 1^{ère} année, des températures inférieures à 27°C pour la 2^{ème} et la 3^{ème} année, alors que le mois d'août est le plus chaud pour la 4^{ème} année avec une température de $27,4^{\circ}\text{C}$ (Annexe 2).

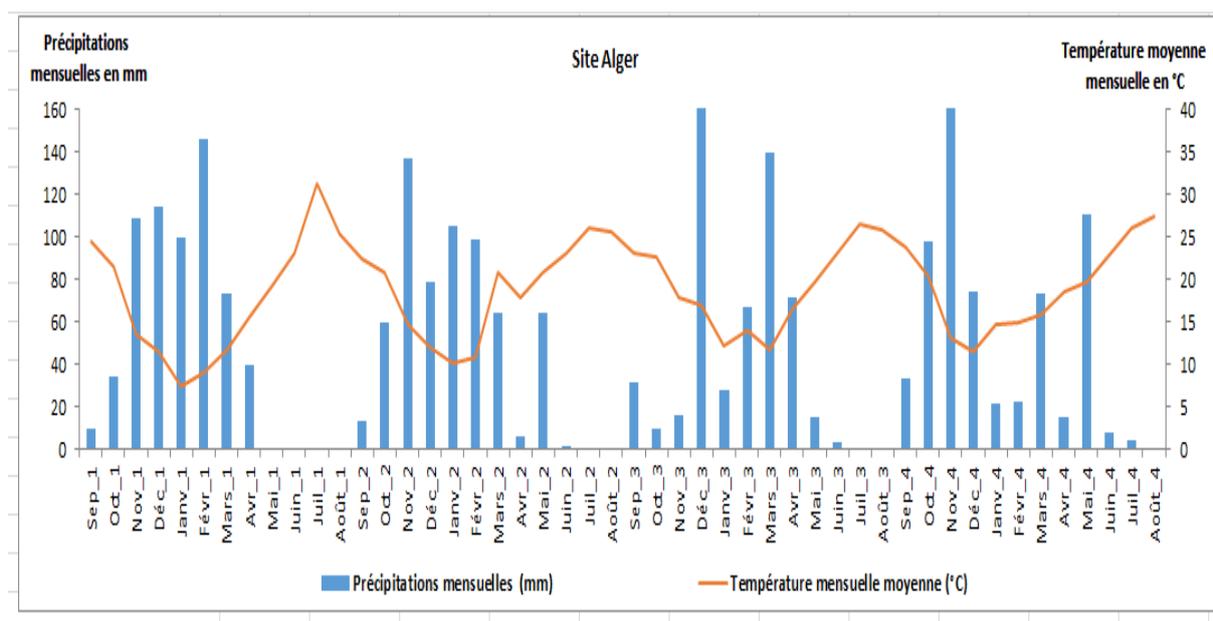


Figure 16: Températures mensuelles moyennes et précipitations mensuelles (Diagrammes Ombrothermiques) des 4 années d'expérimentation 2004-2008 du site d'Alger.

Au niveau de H'Madna (Figure 17) les diagrammes Ombrothermiques des 4 années d'expérimentation de 2004 à 2008 du site de H'Madna. Le cumul des précipitations annuelles par ordre décroissant est de 328,5 mm, 315,8 mm, 233 mm, et 212 mm qui correspond respectivement aux années 2006-2007, 2005-2006, 2004-2005 et 2007-2008 (Annexe 3).

Ces diagrammes Ombrothermiques montrent des périodes humides et sèches plus en moins similaires sur l'ensemble des années de suivi de l'expérimentation. Les périodes humides sont rares ; un seul mois humide pour la 1^{ère} année (décembre), deux mois humides pour la 2^{ème} (novembre et février) et 4 mois humides pour la 3^{ème} année (décembre-janvier et mars-avril). Alors que les périodes sèches s'étalent sur 8 à 12 mois, et d'ailleurs la 4^{ème} année est totalement sèche.

Les mois les plus humides sont décembre, novembre et avril, respectivement de la 1^{ère} à la 3^{ème} année.

Le mois le plus froid est janvier pour toutes les années, où les températures varient entre 9 et 12°C. Cependant, le mois de juillet est toujours le plus chaud pour les 4 années, où les températures dépassent 30°C (Annexe 3).

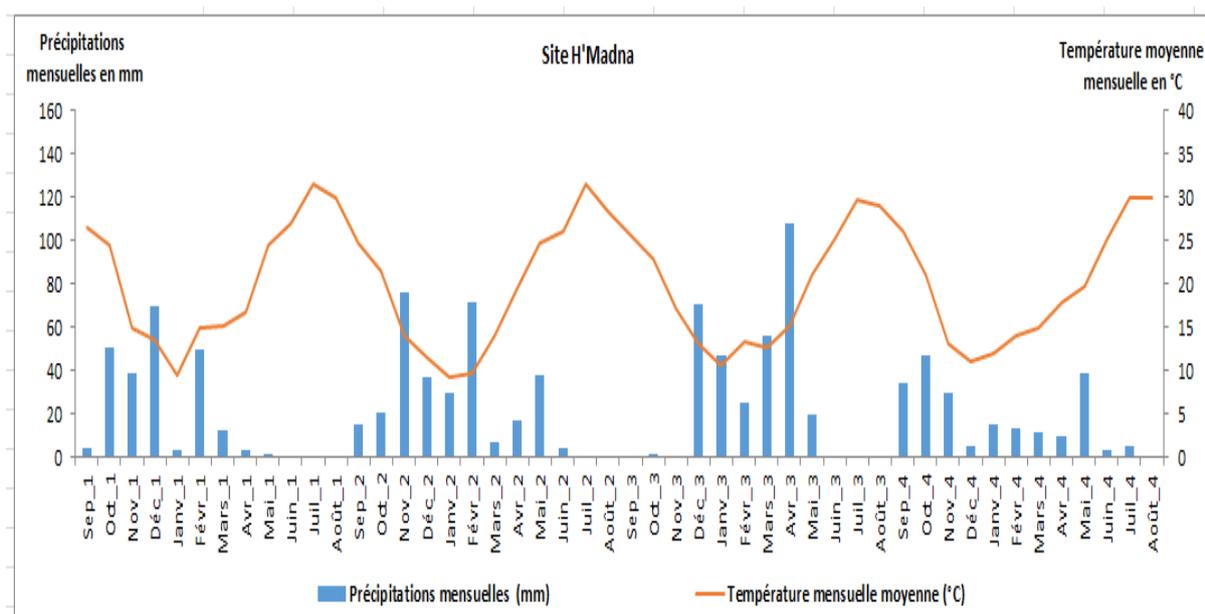


Figure 17: Températures mensuelles moyennes et précipitations mensuelles (Diagrammes Ombrothermiques) des 4 années d'expérimentation 2004-2008 du site de H'Madna.

Tableau 13 : Caractères pédoclimatiques, moyenne sur une durée de quatre années des deux sites d'études (Alger et H'Madna)

Caractères	Alger	H'Madna
Précipitations annuelles (mm)	658	273
Température moyennes annuelles de minima et maxima (°C)	5,3 à 31,6	9,2 à 30,7
Texture du sol	Argilo-limoneuse	Argilo-limoneuse
pH du sol	7,70	7,97
Conductivité électrique du sol (EC) dS m ⁻¹	1,90	5,6
Phosphore assimilable P ₂ O ₅ (ppm)	137,4	83,8

2. Matériel végétal utilisé

Seize cultivars de luzerne pérenne de différentes origines géographiques, à savoir d'Europe, d'Afrique du Nord, des États-Unis et d'Australie (Tableau 14), ont fait l'objet de cette étude. Ce matériel a été obtenu dans le cadre d'un consortium du projet PERMED (Annicchiarico *et al.*, 2011). Le choix de ce matériel a été fait dans un large spectre de variétés et/ou de cultivars des deux rives méditerranéennes à savoir, le Nord d'Afrique (Algérie, Maroc et Tunisie), et Sud de l'Europe (France et Italie), de plus des USA et de l'Australie qui ont des régions à climat méditerranéen. Aussi, ces 16 cultivars se caractérisent par une dormance automnale variant de 5 à 10. Tous les cultivars du Maghreb (Tamantit, Africaine, Gabès 2355, Rich 2, Erfoud 1 et Demnat 203) sont originaires des oasis et souvent conduits en irrigué, et ont un

indice de dormance variant de 6 à 9. Les deux cultivars italiens (Ecotipo Sicilien et Mamuntanas) sont sélectionnés au Sud de l'Italie pour être cultivés en mode pluvial, tandis que, Prosementi est sélectionné au Nord qui se caractérise par des conditions de pluviométrie plus favorables. Les deux variétés américaines (ABT 805 et Ameristand 801S) sont sélectionnées au Sud-Est des USA, et sont tolérantes respectivement, au pâturage et à la salinité. Les trois variétés françaises (Magali, Melissa et Coussouls) sont adaptées aux conditions tempérées et caractérisées par un indice de dormance automnale moyen (5-6,5). Les deux variétés australiennes (Siriver et Sardi 10) sont sélectionnées au Sud et ont un indice de dormance élevé (9-10)

Tableau 14 : Code, nom de cultivar, pays d'origine et caractéristiques de seize géotypes de luzerne pérenne étudiés en Algérie.

Code	Cultivars	Origine	Conduite	Indice de dormance automnale	Tolérance/Sensibilité
G1	Ecotipo Sicilien	Sicile (Italie)	Conditions pluviales	6	-
G2	Prosementi	Nord de l'Italie	Conditions modérément favorables	6	-
G3	ABT 805	Sud-Est USA	-	6	Tolérante au pâturage
G4	Ameristand 801S	Sud-Est USA	-	8	Grande tolérance à la salinité
G5	Mamuntanas	Sardaigne (Italie)	Conditions pluviales	-	-
G6	Tamantit	Sud d'Algérie	En irrigué (variété oasisienne)	-	Très sensible aux ravageurs et agents pathogènes
G7	Sardi 10	Sud d'Australie	Conditions d'hiver doux	10	-
G8	Siriver	Sud d'Australie	Sélectionnée dans une région à forte pluviométrie	9	Résistance aux pucerons
G9	Africaine	Maroc	En irrigué	-	-
G10	Gabès 2355	Tunisie	En irrigué (variété oasisienne)	9	Tolérance à la salinité
G11	Magali	Ouest de France	Conditions tempérées	5.5 à 6	-
G12	Melissa	Sud de France	Conditions d'hiver doux	6.5	-
G13	Coussouls	France	-	5 à 5.5	Tolérante au pâturage
G14	Rich 2	Maroc	En irrigué (variété oasisienne)	8	Tolérance à la salinité
G15	Erfoud 1	Maroc	En irrigué	6	Tolérance à la salinité
G16	Demnat 203	Maroc	En irrigué (variété oasisienne)	9	-

3. Protocole expérimental

Les 16 cultivars ont été évalués dans deux sites algériens (Alger-Plaine Mitidja et H'Madna-Plaine bas Cheliff) respectivement sous deux régimes hydriques, à savoir les conditions

pluviales (E2, Alger et E4, H'Madna) et conditions d'irrigation par aspersion (E1, Alger et E3, H'Madna), avec arrêt d'irrigation en été pendant neuf semaines. Les quantités moyennes d'irrigation des 4 années de suivi sont de 150 et 254 mm respectivement pour l'essai d'Alger (E1) et de H'Madna (E3).

Chaque environnement testé dans cette étude est une combinaison du site (Alger ou H'Madna) avec le système de conduite de la culture (pluvial ou irrigué). De plus, deux différences pédoclimatiques majeures existent entre les deux sites ; le climat sub-humide à Alger avec sol non salin ; et climat semi-aride tendance aride avec sol salin à H'Madna. Donc, c'est sur le total de quatre environnements, E1 (Alger : non salin-irrigué), E2 (Alger : non salin-pluvial), E3 (H'Madna : salin-irrigué) et E4 (H'Madna : salin-pluvial), que l'étude interaction génotype-environnement (GEI) a été réalisée.

Chaque environnement a été installé suivant le dispositif expérimental en bloc aléatoire complet avec quatre répétitions dont chaque bloc est constitué de seize microparcelles qui correspondent aux 16 populations. La superficie de la parcelle élémentaire était de 5 m² (2 m × 2,5 m), comprenant 10 lignes espacées de 20 cm. La dose de semis était de 25 kg ha⁻¹, et un apport en engrais phosphaté (P₂O₅) a été appliqué avant le semis à raison de 92 kg ha⁻¹.

Le rendement cumulé en matière sèche (DMY) sur quatre années d'évaluation a été utilisé pour estimer l'ampleur des effets de l'interaction génotype (16 cultivars de luzerne, G1 à G16) x environnement (E1 à E4) et pour identifier des cultivars largement ou spécifiquement adaptés. Le rendement en matière sèche (DMY) de la parcelle a été obtenu pour chaque fauche après un séchage à l'étuve à 80° C pendant 48 h, de la surface récoltée qui était de 2,4 m² (six rangées médianes d'une longueur de 2 m). La coupe est généralement effectuée lorsque 75% des plants atteignent une hauteur de 30 à 35 cm en hiver ou après le début de la floraison de 75% des parcelles au printemps.

4. Analyses statistiques

Une analyse de la variance (ANOVA) a été effectuée sur les données recueillies durant les quatre années de suivi de l'expérimentation, afin d'évaluer la GEI ainsi que la stabilité des cultivars à travers les quatre environnements. Également, un test LSD a été utilisé pour détecter les plus petites différences significatives entre les moyennes à probabilité de 5%. Deux modèles statistiques, nommés « AMMI » et « GGE », ont été utilisés pour explorer les données des essais multi-environnements recueillies durant 4 ans pour les 16 génotypes sous 4 environnements tests. En fait, ces deux modèles combinent l'analyse de la variance (ANOVA)

pour les effets additifs et l'analyse des composantes principales (CP) pour les effets multiplicatifs (Gauch *et al.*, 2008).

Modèle AMMI

Le modèle statistique nommé AMMI a été appliqué pour étudier les modèles de GEI et afficher graphiquement les moyennes, l'adaptation et la stabilité des cultivars de luzerne dans tous les environnements. En effet, ce modèle, qui combine l'ANOVA avec l'analyse en composantes principales (ACP) (Zobel *et al.*, 1988), est une méthode très efficace pour étudier GEI. Le modèle AMMI se présente comme suit :

$$Y_{ge} = \mu + \alpha_g + \beta_e + \sum \lambda_n \zeta_{gn} \eta_{en} + \theta_{ge}$$

Où Y_{ge} est le rendement du génotype (g) en environnement (e) ; μ est la moyenne ; α_g est la déviation moyenne du génotype ; β_e déviation moyenne de l'environnement ; λ_n est la valeur propre de l'axe ACP $_n$ où n est le nombre d'axe ACP ; ζ_{gn} et η_{en} sont les scores ACP du génotype et de l'environnement pour l'axe ACP $_n$; and θ_{ge} est la résiduelle.

Dans le modèle AMMI, la contribution de chaque cultivar et de chaque environnement à la GEI a été révélée et affichée à l'aide du graphe biplot, dans lequel les moyennes des rendements ont été tracées contre les scores de la première composante principale (ACP1) (Zobel *et al.*, 1988).

Le Biplot est l'outil d'interprétation le plus puissant du modèle AMMI, où les aspects des génotypes et des environnements sont tracés sur le même axe, ce qui permet de visualiser toutes les relations. Par conséquent, Gauch *et al.* (2008) ont suggéré que l'affichage AMMI-1 (Biplot) des rendements des génotypes décrit simplement et clairement les génotypes gagnants et les réponses adaptatives.

Purchase *et al.* (2000) ont développé une approche appelée indice de stabilité AMMI (ASV) et l'ont considéré comme la procédure la plus appropriée pour décrire la stabilité d'un génotype, qui est basée sur les scores du premier axe (IPCA1) et du second axe (IPCA2) des composantes principales pour chaque génotype du modèle AMMI.

En effet, l'indice de stabilité d'AMMI (ASV) représente la distance à partir de l'origine au point des coordonnées du génotype en deux dimensions des scores de l'IPCA 1 par rapport aux scores de l'IPCA2 dans le modèle AMMI.

De ce fait, les génotypes présentant les valeurs ASV les plus faibles, ont la projection la plus courte à partir de l'origine du Biplot et sont considérés comme les plus stables. ASV se calcule comme suit :

$$ASV = \sqrt{\left[\frac{SS_{IPCA1}}{SS_{IPCA2}} (IPCA1score) \right]^2 + (IPCA2score)^2}$$

Où, $\frac{SS_{IPCA1}}{SS_{IPCA2}}$, est le poids donné à la valeur IPCA1 en divisant la somme des carrés d'IPCA1 par la somme des carrés d'IPCA2, et les scores IPCA1 et IPCA2 sont les scores génotypiques dans le modèle AMMI.

Modèle GGE

Un GGE biplot est construit en traçant les scores de la première composante principale (CP1) des génotypes et des environnements par rapport à leurs scores respectifs pour la seconde composante principale (CP2) qui résultent de la SVD (décomposition en valeurs singulières) de l'environnement centré ou normalisé sur GED (données génotype par environnement) (Yan *et al.*, 2007).

L'analyse GGE se présente suivant le modèle qui suit (Yan, 2001) :

$$Y_{ij} - \mu - \bar{Y}_j = \lambda_1 g_{i1}e_{1j} + \lambda_2 g_{i2}e_{2j} + \varepsilon_{ij},$$

Où : Y_{ij} est le rendement moyen du génotype i sous l'environnement j ; μ est la moyenne générale ; \bar{Y}_j est le rendement moyen de tous les génotypes dans l'environnement j ; λ_1, λ_2 sont les valeurs singulières de PC1 et PC2 respectivement ; g_{i1} et g_{i2} sont les scores du PC1 et PC2 du génotype i , respectivement ; e_{1j} et e_{2j} sont les scores du PC1 et PC2 de l'environnement j , respectivement ; et ε_{ij} la résiduelle associée au génotype i et l'environnement j .

L'analyse des essais de rendement par le modèle GGE se base sur : (i) la délimitation du méga-environnement, (ii) l'évaluation du génotype et (iii) l'évaluation de l'environnement test, Ce qui correspond respectivement aux trois figures GGE biplot, « qui a gagné-où », « Performance vs stabilité » et « pouvoir discriminant vs représentativité » (Yan *et al.*, 2007).

Les analyses statistiques ont été réalisées par le Package « Agricolae » du logiciel R (version 3.5.1) et le Package « GGEbiplot » de PBTools (version 1.4).

III. Résultats et Discussion

1. Interprétation descriptive des données du rendement selon le régime hydrique et la région

La culture de luzerne s'est bien maintenue dans les différents environnements étudiés au cours des quatre années d'étude. La proportion du rendement en matière sèche de la quatrième année par rapport au celle du total a été égale ou supérieure à 25 % pour trois (3) environnements (E1, E2 et E3) ; par contre, pour l'environnement E4 (H'Madna-pluvial) la proportion été seulement de 15 % (Tableau 15).

Indépendamment du régime hydrique appliqué, le site d'Alger (subhumide) a montré un potentiel de rendement fourrager beaucoup plus élevé que le site de H'Madna (semi-aride). Les conditions pluviales (E2 et E4) ont entraîné des baisses de rendements de 41,6% et 48,5% par rapport à l'irriguées dans les sites d'Alger (E1) et de H'Madna (E3), respectivement. Le rendement à H'Madna est en fait inférieur de 38,0 % (E3) et de 45,2 % (E4) à celui d'Alger en conditions irriguées (E1) et pluviales (E2), respectivement.

A Alger, le fait d'assurer des irrigations a considérablement augmenté le potentiel de rendement fourrager. En effet, le rendement en matière sèche de certains cultivars est à 1,5 à 2 fois plus en système irrigué, surtout les cultivars oasiens sélectionnés en système irrigué comme : Gabès 2355 qui passe de 20,49 t ha⁻¹ en pluvial à 41,05 t ha⁻¹ en irrigué, et Tamantit qui passe de 15,19 t ha⁻¹ en pluvial à 30,47 t ha⁻¹ en irrigué. Le même constat est noté sur le site de H'Madna entre la conduite pluviale et irriguée (Tableau 15).

A l'opposé, la combinaison d'une sécheresse sévère et d'un stress salin élevé a considérablement limité le potentiel de rendement dans l'environnement pluvial de H'Madna (Tableau 15). Et malgré, l'irrigation au site de H'Madna, les rendements en matière sèche de tous les cultivars sont loin par rapport à ceux enregistrés à Alger en irrigué, mais plutôt ils avoisinent ceux d'Alger en pluvial.

Tableau 15 : Les rendements moyens \pm erreur standard en matière sèche en t ha⁻¹ des 16 cultivars de luzerne dans les 4 environnements étudiés

Géotype	Site Alger		Site H'Madna	
	Irrigué (E1)	Pluvial (E2)	Irrigué (E3)	Pluvial (E4)
Ecotipo Sicilien (G1)	46,50 \pm 2,46	28,86 \pm 1,37	31,30 \pm 2,56	15,87 \pm 1,46
Gabès 2355 (G10)	41,05 \pm 2,46	20,49 \pm 1,37	25,58 \pm 2,56	12,43 \pm 1,46
Magali (G11)	44,59 \pm 2,46	26,40 \pm 1,37	26,76 \pm 2,56	13,94 \pm 1,46
Melissa (G12)	43,05 \pm 2,46	26,45 \pm 1,37	25,35 \pm 2,56	15,01 \pm 1,46
Coussouls (G13)	46,25 \pm 2,46	26,89 \pm 1,37	27,70 \pm 2,56	13,06 \pm 1,46
Rich 2 (G14)	44,41 \pm 2,46	23,77 \pm 1,37	23,80 \pm 2,56	14,75 \pm 1,46
Erfoud 1 (G15)	42,44 \pm 2,46	26,40 \pm 1,37	29,39 \pm 2,56	15,43 \pm 1,46
Demnat 203 (G16)	36,97 \pm 2,46	21,17 \pm 1,37	23,93 \pm 2,56	11,64 \pm 1,46
Prosementi (G2)	42,84 \pm 2,46	25,97 \pm 1,37	24,50 \pm 2,56	11,85 \pm 1,46
ABT 805 (G3)	48,54 \pm 2,46	26,18 \pm 1,37	29,16 \pm 2,56	14,30 \pm 1,46
Ameristand 801S (G4)	46,26 \pm 2,46	28,86 \pm 1,37	34,13 \pm 2,56	17,29 \pm 1,46
Mamuntanas (G5)	49,91 \pm 2,46	30,03 \pm 1,37	27,87 \pm 2,56	17,45 \pm 1,46
Tamantit (G6)	30,47 \pm 2,46	15,19 \pm 1,37	23,01 \pm 2,56	9,27 \pm 1,46
Sardi 10 (G7)	46,47 \pm 2,46	29,77 \pm 1,37	28,73 \pm 2,56	15,08 \pm 1,46
Siriver (G8)	44,30 \pm 2,46	27,86 \pm 1,37	26,56 \pm 2,56	14,34 \pm 1,46
Africaine (G9)	36,46 \pm 2,46	19,72 \pm 1,37	21,25 \pm 2,56	10,60 \pm 1,46
Moyenne/E	43,16 \pm 2,46	25,26 \pm 1,37	26,81 \pm 2,56	13,89 \pm 1,46
Apport 4ème année/total DMY	0,30	0,24	0,24	0,15
Moyenne/Site	34,21		20,35	
Moyenne générale	27,28			

Lorsque les mêmes cultivars ont été testés dans plusieurs environnements d'Italie et du Maghreb, une baisse de rendement de 42 % a été observée en conditions pluviales par rapport à celles irriguées (Annicchiarico *et al.*, 2011). Les résultats enregistrés pour le site d'Alger confirment, en général, cette tendance ; tandis que dans la zone semi-aride et saline de H'Madna la réduction observée a été plus importante. Le niveau de salinité enregistré à cet endroit dépassait largement la valeur critique, qui est de $2,0 \text{ dS m}^{-1}$, de baisse de rendement estimée chez la luzerne (Grieve *et al.*, 2012). En plus, le stress salin a accentué les effets de la sécheresse. Les plantes peuvent en effet mieux tolérer la salinité sous climat frais et humide que sous climat chaud et sec (Peverill *et al.*, 1999).

Bouizgaren *et al.* (2013) ont également évalué les mêmes cultivars dans une région semi-aride du Maroc. En comparant le rendement d'un essai en irrigation discontinu (même irrigation que nos essais en irrigués) avec le rendement d'un essai sous irrigation continue (système oasien), ils ont constaté une réduction du rendement variant entre 23,9% et 42,6%.

2. Modèle AMMI-1

Les résultats de l'analyse AMMI sont résumés dans le Tableau 16. Des variations très hautement significatives entre les cultivars et entre les environnements pour le rendement total en matière sèche (DMY) ont été observées ($P < 0,001$). Le modèle AMMI a clairement démontré l'existence d'une GEI significative. Le carré moyen de l'axe CP1 était quatre fois plus élevé que le carré moyen de la résiduelle, tandis que l'axe CP1 captait 72,3 % de la somme des carrés des écarts (SCE) de l'interaction et la résiduelle capte seulement 27,7 % (Tableau 16). Ces valeurs indiquent que le modèle AMMI est très efficace pour résumer l'interaction. La somme des carrés des écarts (SCE) de l'environnement était 10,14 fois plus grande que la SCE du génotype et 16,20 fois plus grande que la SCE de l'interaction $G \times E$, tandis que la SCE du génotype était 1,59 fois plus grande que la SCE de l'interaction $G \times E$ (Tableau 16).

Seule la première composante principale CP1 était significative (Tableau 16 et 19), donc on retient un graphe Biplot à un seul axe (AMMI-1) qui indique environ 70,7 % de la variation du GEI, est représenté dans la Figure 18.

Le rendement le plus élevé a été enregistré en conditions irriguées et ceci pour le cultivar américain Ameristand 801S (34,13 t/ha) à H'Madna et le cultivar italien Mamuntanas (49,91 t/ha) à Alger (Figure 18). Les cultivars nord-africains ont tendance à produire mieux sous l'environnement à faible score CP1 (site H'Madna avec une forte salinité du sol),

contrairement aux cultivars non africains qui ont montré la réponse opposée, sauf la variété américaine Ameristand 801S connue pour sa tolérance à la salinité (Figure 18). Les cultivars nord-africains Erfoud 1, Tamantit, Demnat 203 et Gabès 2355 ont donné plus de rendement sous irrigation à H'Madna (sol salin) qu'à Alger (non salin) sans irrigation. Le rendement d'Erfoud 1 est particulièrement intéressant, car il a enregistré des rendements élevés au site de H'Madna et il n'est pas loin des deux meilleurs cultivars pour ce site (Ameristand801S et Ecotipo sicilien) ce qui suggère un modèle d'adaptation spécifique à H'Madna sous contrainte saline (Figure 18).

Les cultivars nord-africains ont été moins productifs à Alger sous les deux régimes hydriques pluvial et irrigué (Figure 18).

Le cultivar algérien Tamantit était plus productif dans le milieu irrigué de H'Madna que dans les autres milieux. Ce cultivar provient d'une oasis à climat aride et à forte salinité, et a montré une totale intolérance au climat subhumide d'Alger (Figure 18).

Quel que soit le régime hydrique, le cultivar le plus productif à Alger était Mamuntanas, suivi par ABT 805 et Sardi 10, alors qu'à H'Madna le cultivar le plus productif était Ameristand 801S, suivi par Ecotipo Sicilien et Erfoud 1. Prosementi, sélectionné pour les conditions modérément favorables du nord de l'Italie, s'est avéré mal adapté aux régions à stress salin.

Tandis que les cultivars australiens et européens tendent à être plus productifs dans la zone subhumide d'Alger, les cultivars nord-africains atteignent généralement leur maximum dans la zone semi-aride de H'Madna. Un rendement stable et relativement élevé dans tous les environnements a été noté pour Ecotipo Sicilien de l'Italie, alors que le cultivar français Magali présentait un rendement plutôt stable mais moyen. Des réponses de rendement très instables à travers les environnements ont été observées pour le cultivar algérien Tamantit et la variété italienne Mamuntanas.

Tableau 16 : Analyse de la variance du rendement total en matière sèche, des quatre années de 16 cultivars de luzerne, cultivés dans quatre environnements algériens. Interaction génotype × environnement (GEI) analysée par le modèle multiplicatif AMMI.

Source de variation	DDL	SCE	CM
Environnement/Milieu	3	28192,60	9397,50***
Bloc (Environnement)	12	651,50	54,30***
Génotype	15	2778,90	185,30 ***
Génotype × Environnement	45	1740,00	38,70***
CP1	17	1258,29	74,02***
Résiduelle	28	481,71	17,20 NS
Erreur	180	2548,40	14,20

NS, *, **, ***: non significatif, significatif à $P < 0.05$, $P < 0.01$, et $P < 0.001$, respectivement

Tableau 17 : Signification de chaque axe des ACP dans l'analyse par le modèle multiplicatif AMMI.

Axe	Pourcentage	Cumul	DDL	SCE	CM	Valeur F.	Pr.F
CP1	70,7	70,7	17	1258,2947	74,01733	5,23	0,0000***
CP2	16,7	87,4	15	297,6129	19,84086	1,40	0,1512 NS
CP3	12,6	100,0	13	223,7748	17,21345	1,22	0,2681 NS
CP4	0,0	100,0	11	0,0000	0,00000	0,00	1,0000 NS

NS, *, **, ***: non significatif, significatif à $P < 0.05$, $P < 0.01$, et $P < 0.001$, respectivement. Le DDL de chaque axe CPA est calculé comme suit : $DDL = g + e - 1 - 2n$, où g est le nombre de génotypes testés, e est le nombre d'environnements testés, n est le numéro de l'axe (Annicchiarico, 2002).

Les réponses adaptatives pour les 16 génotypes de luzerne selon le modèle AMMI1 sont présentées dans la Figure 16. Les scores en composante principale (PC) 1 pour les quatre environnements sont indiqués en abscisse et les rendements nominaux pour les 16 génotypes en ordonnée. Selon la Figure 16, Mamuntanas (G5) gagne aux deux environnements d'Alger (E1 et E2), tandis qu'Ameristand 801S (G4) gagne aux deux environnements de H'Madna (E3 et E4). En outre, Le génotype « Ecotipo sicilien-G1- » à une réponse plate donc il possède la plus grande stabilité et largement adapté aux 4 environnements étudiés (Figure 18).

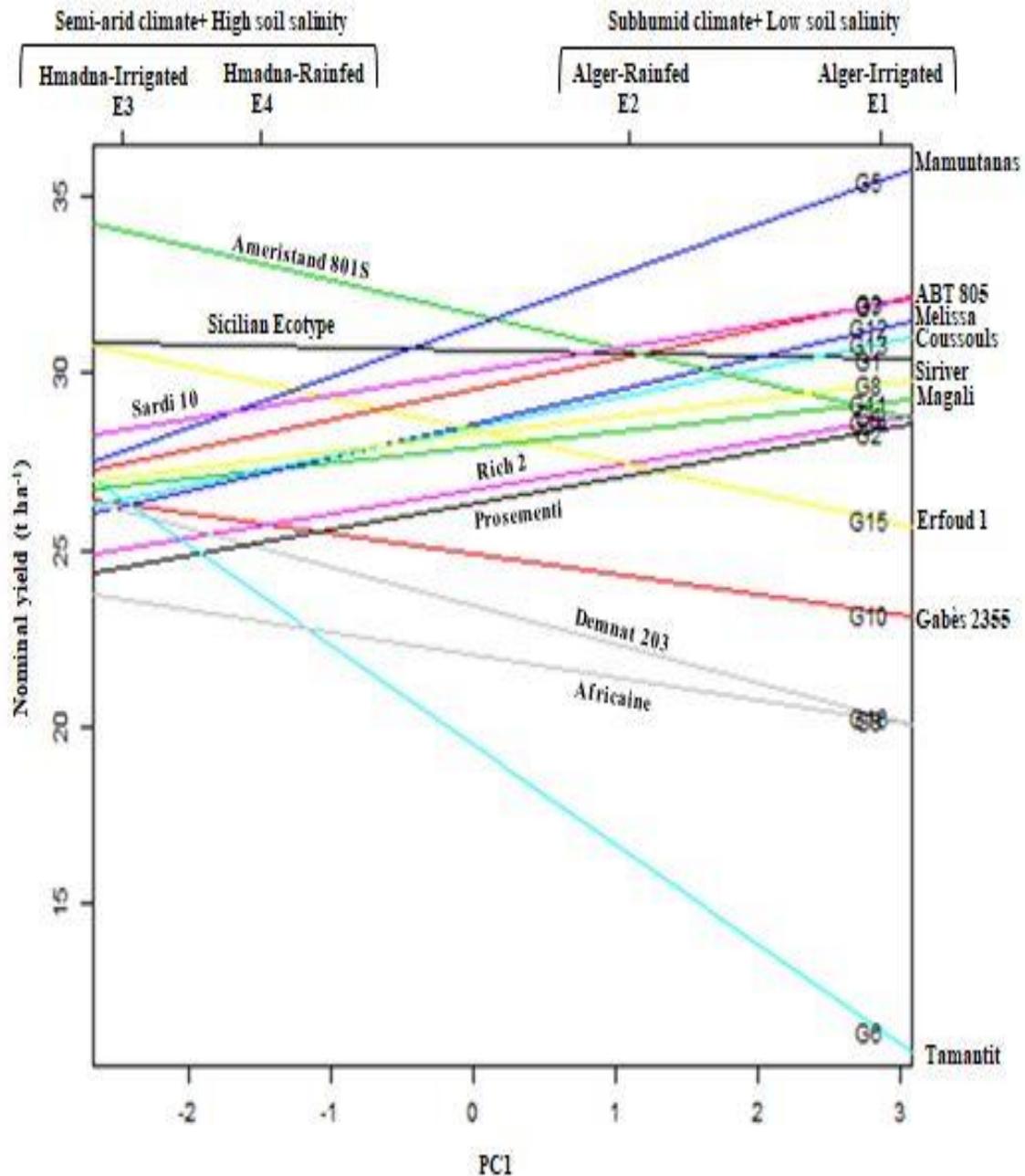


Figure 18 : Rendement nominal de seize cultivars de luzerne en fonction du score CP1 (CP1 = 70,7% de la variation totale GEI). Les génotypes sont nommés de G1   G16 et les environnements d'E1 to E4 (voir les Tableaux 14 et 15).

Un autre biplot de AMMI-1 (Figure 19) montre les moyennes du génotype et de l'environnement, avec une ligne verticale à la moyenne générale de 27,28 t / ha. Les scores de la composante principale (PC) 1 sont indiqués en ordonn e, avec une ligne horizontale à 0. Ce graphique capte 70,7% de la variabilité du rendement. Le génotype avec la plus grande stabilité est G1 (Ecotipo sicilien), et il est aussi facilement identifié sur la figure 19 car il a un score PC1 plus proche de 0.

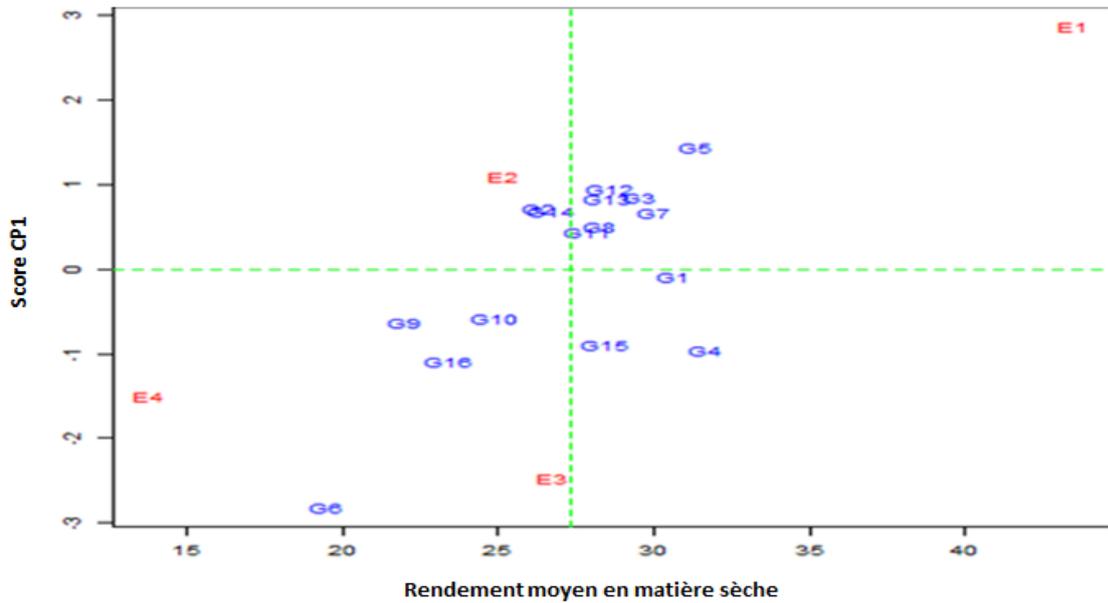


Figure 19 : Biplot AMMI-1 à un seul axe CP1=70,7%, par rapport au rendement moyen en matière sèche des 16 cultivars durant 4 ans de suivis. Les génotypes sont nommés de G1 à G16 et les environnements d’E1 to E4 (voir les tableaux 14 et 15).

Les deux plots (Figure 20 et 21), montrent respectivement la variation détaillée du rendement moyen en matière sèche de chaque génotype par rapport aux 4 environnements, et la variation détaillée du rendement moyen en matière sèche de chaque environnement par rapport aux 16 génotypes.

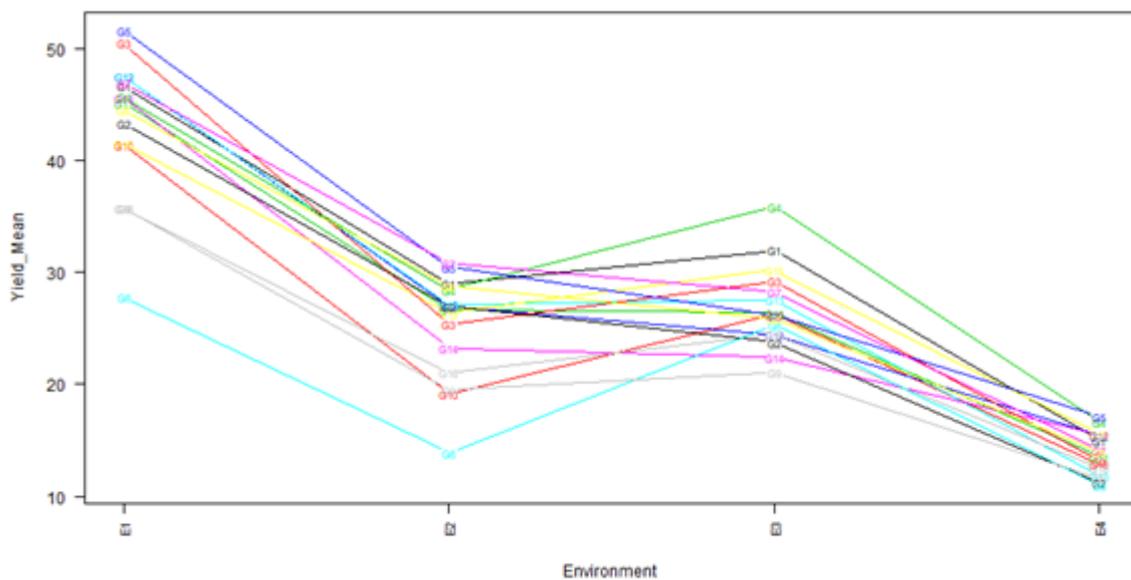


Figure 20 : Plot de la variation du rendement moyen en matière sèche des 16 génotypes par rapport aux 4 environnements. Les génotypes sont nommés de G1 à G16 et les environnements d’E1 to E4 (voir les Tableaux 14 et 15)

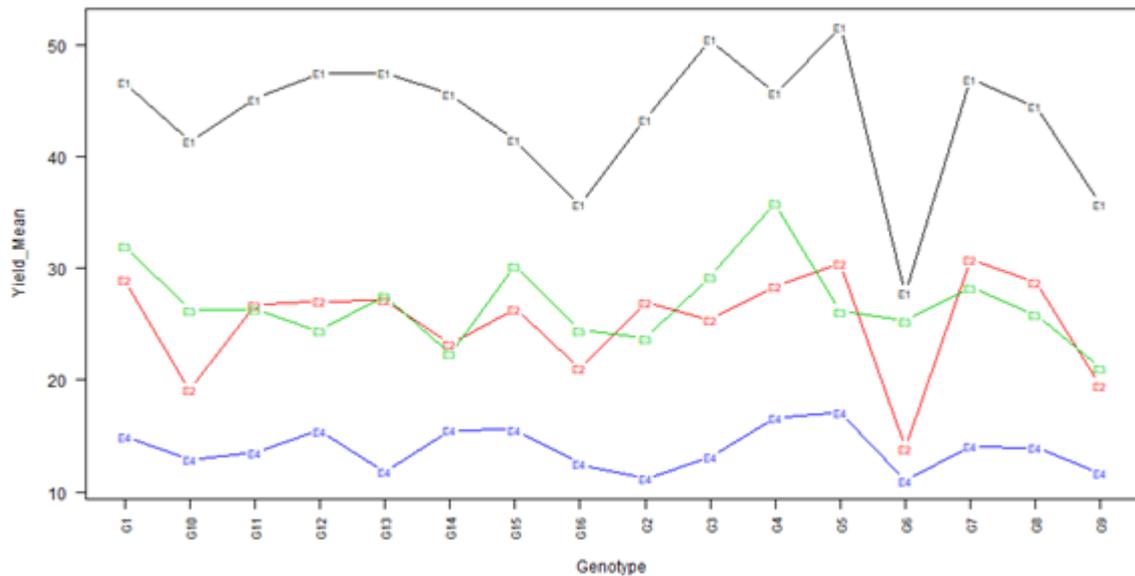


Figure 21 : Plot de la variation du rendement moyen en matière sèche des 4 environnements par rapport aux 16 génotypes. Les génotypes sont nommés de G1 à G16 et les environnements d'E1 to E4 (voir les Tableaux 14 et 15).

Les modèles d'adaptation de notre étude se sont révélés cohérents avec plusieurs résultats antérieurs. Les études rapportées par Annicchiarico *et al.* (2011) et Pecetti *et al.* (2013) ont mis en évidence la forte tolérance au sel d'Ameristand 801S et Erfoud 1. De plus, les essais sur terrain et les tests de germination ont suggéré que les cultivars nord-africains pourraient être des ressources génétiques intéressantes pour la tolérance au sel (Pecetti *et al.*, 2013). Par ailleurs, la luzerne tolérante à la sécheresse peut être trouvée chez les cultivars ou variétés sélectionnés dans des conditions pluviales ou stressantes en Europe du Sud, aux Etats-Unis et en Australie (Pecetti *et al.*, 2008 ; Annicchiarico *et al.*, 2013), et donc pas au Maghreb car les cultivars des oasis sont conduits sous irrigation.

Dans une étude similaire menée dans le sud de la Tunisie (avec une interruption de l'irrigation pendant 6 à 9 semaines au cours des trois années d'évaluation), Hayek *et al.* (2008) ont enregistré le rendement le plus élevé pour Ecotipo Sicilien, ABT 805, Ameristand 801S, Siriver et Mamuntanas, qui dépassent la productivité du cultivar local Gabès 2355. Dans la même zone, les populations introduites de luzerne ont également eu un rendement en matière fraîche plus élevé que les populations indigènes comme Gabès (Benabderrahim *et al.*, 2015a). Le potentiel élevé de rendement fourrager d'Ameristand 801S, Sardi 10 et Siriver a été confirmé même sous stress hydrique (Benabderrahim *et al.*, 2015b). Cependant, il y a eu le travail de Loussaief *et al.* (2009) qui a montré que Gabès révélait une meilleure résistance au déficit hydrique que le cultivar introduit Aquarius.

Le cultivar algérien Tamantit se caractérise par une grande sensibilité aux différents ravageurs et pathogènes et il n'est pas adapté aux conditions humides (Aomari, 2011). Cependant, Tamantit et Gabès 2355 produisaient mieux (environ 30 t/ha) que les variétés introduites telles que Magali (de France) et Lodi (d'Italie) dans l'oasis d'Adrar en raison de leur haute tolérance au stress thermique qui peut atteindre les 50°C (Bouaboub-Mossab, 2001). De plus, Chaabena *et al.* (2011) ont conclu que les deux variétés introduites (saoudienne et italienne) étaient plus sensibles aux températures élevées tandis que 9 populations locales se sont avérées plus résistantes dont le cultivar « Tamantit ». En effet, dans les conditions pédoclimatiques saharienne, les variétés introduites de France et d'Italie dépérissent à cause de la chaleur élevée, alors que les populations locales des oasis (In-Salah, Temacine, Chott, El-Meniaa, Ghardaïa, Timimoun, Aoulef et le cultivar tunisien-Gabès 2355-) présentent les meilleures performances adaptatives (Chaabena *et al.*, 2004).

Dans une étude menée sur les mêmes cultivars à H'Madna et basée sur le rendement et l'indice de tolérance au stress, Bellague *et al.* (2016) ont confirmé d'une part, la meilleure performance de Mamuntanas, Ameristand 801S, Erfoud 1 et Ecotipo Sicilien, et d'autre part, le plus faible rendement des cultivars nord-africains. Sous des conditions pluviales dans le sud de la Sardaigne, Pecetti *et al.* (2008) ont observé un classement de rendement comparable à celui de notre étude. En fait, la plupart des cultivars nord-africains ne sont pas adaptés à des environnements sévèrement exposés à la sécheresse car ils ont été sélectionnés dans des conditions irriguées (Annicchiarico *et al.*, 2011). Dans des milieux méditerranéens arides du Chili, delPozo *et al.* (2017) ont également obtenu le meilleur rendement fourrager du cultivar australien Sardi 10.

3. Indice AMMI et stabilité du rendement

Le rendement en matière sèche totale sur quatre ans d'exploitation des seize cultivars varie de 19,49 t/ha (Tamantit) à 31,64 t/ha (Ameristand 801S), avec une moyenne de 27,28 t/ha (Tableau 18). Les quatre cultivars les mieux classés (plus de 30 t/ha) sont le cultivar américain Ameristand 801S, les cultivars italiens Ecotipo Sicilien et Mamuntanas, et le cultivar australien Sardi 10. Les quatre cultivars classés en dernier (< 25 t/ha) sont tous du nord de l'Afrique (Tableau 18).

Tableau 18 : Rendement total moyen en matière sèche (DMY) de 16 cultivars de luzerne dans quatre environnements d'évaluation, et classement des cultivars selon l'indice de stabilité AMMI (ASV), [Les valeurs moyennes de DMY suivies de lettres selon la différence la moins significative (LSD) à P = 0,05].

Génotype	DMY (t ha ⁻¹)	ASV
Ecotipo Sicilien	30,63 ^{abc}	0,87
Magali	27,92 ^{cde}	0,95
Gabès 2355	24,89 ^{lg}	1,13
Siriver	28,27 ^{cde}	1,14
Melissa	27,46 ^{def}	1,16
Sardi 10	30,01 ^{abcd}	1,44
Prosementi	26,29 ^{ef}	1,54
Africaine	22,01 ^{hi}	1,55
Erfoud 1	28,42 ^{cde}	1,65
Rich 2	26,68 ^{ef}	1,72
Coussouls	28,48 ^{bcd}	1,93
Demnat 203	23,43 ^{gh}	2,14
ABT 805	29,54 ^{abcd}	2,16
Ameristand 801S	31,64 ^a	2,18
Mamuntanas	31,31 ^{ab}	2,96
Tamantit	19,49 ⁱ	5,49
LSD (P = 0.05)	2,85	

La stabilité remarquable avec un bon rendement fourrager, déjà notée dans la représentation graphique de l'analyse AMMI pour Ecotipo Sicilien (G1), a également été confirmée par son indice ASV et sa DMY moyenne dans les différents milieux (Tableau 18). L'indice ASV confirme également l'instabilité de Mamuntanas (G5) et Ameristand 801S (G4) dans leur environnement d'adaptation respectif, Alger-irrigué (E1) et H'Madna-irrigué (E3) (Figure 18), et la forte instabilité du Tamantit (G6) du fait de son inadéquation mentionnée en condition subhumide (Alger). D'autres cultivars présentant un faible ASV, tels que Magali (G11) et Gabès 2355 (G10) (Tableau 18), sont en fait caractérisés par des performances intermédiaires entre les environnements (Figure 18).

Mahmodi *et al.* (2011) ont pu discriminer les génotypes les plus stables à haut rendement en grain pour le blé en utilisant l'indice ASV basé sur le modèle AMMI. En effet, Les génotypes stables assurent une meilleure réponse dans une large gamme d'environnements et surtout en années défavorables (Annicchiarico, 2002).

4. Modèle GGE

Deux composantes principales CP1 et CP2 sont significatives (Tableau 19), donc on retient des graphes GGE Biplot à deux axes qui indiquent environ 92,5 % de la variation G + GE, représentés dans les Figures 22 et 23. De manière générale, plus les pourcentages des CP sont élevés, plus le chercheur aura confiance dans les interprétations basées sur le biplot. Cependant, si une plus petite partie de la variation totale est expliquée, cela ne signifie pas nécessairement que le biplot est inutile (Yan *et al.*, 2007).

Tableau 19 : Signification de chaque axe des ACP dans l'analyse GGE

Axe	Pourcentage	Cumul	DDL	SCE	CM	Valeur F.	Pr.F
CP1	77,4	77,4	17	3546.4971	208.61748	14.74	0,0000***
CP2	15,1	92,5	15	692.8906	46.19271	3.26	0.0001***
CP3	4,9	97,4	13	223.9271	17.22516	1.22	0.2681 NS
CP4	2,6	100,0	11	120.5747	10.96134	0.77	0.6696 NS

NS, *, **, ***: non significatif, significatif à $P < 0.05$, $P < 0.01$, et $P < 0.001$, respectivement

4.1. Evaluation des environnements tests

Le GGE biplot (Figure 22) évalue les 4 environnements testés en leur pouvoir discriminant vs représentativité. Ce biplot explique 92,5% (à deux axes CP1=77,4% et CP2=15,1%) du total G + GE pour l'ensemble de données du rendement moyen en matière sèche des 16 génotypes testés sous 4 environnements durant 4 ans de suivis.

La Figure 22 indique la discrimination des génotypes étudiés au sein des environnements testés, et la représentativité de ces environnements. Ainsi, les environnements testés peuvent être classés en trois types détaillés dans le Tableau 20. Yan (2001) a défini un environnement test «idéal», comme un environnement virtuel qui a le vecteur le plus long de tous les environnements test (le plus discriminant) et situé sur l'axe AEA (le plus représentatif).

Les deux environnements conduits en pluvial, Alger-Pluvial (E2) et H'Madna-Pluvial (E4), ont les plus petits angles avec l'axe des abscisses AEA qui est « l'axe de l'environnement moyen » (Figure 22). Donc selon le Tableau 20, ils sont plus représentatifs du méga-environnement que ceux qui ont des angles plus grands avec lui, à savoir, Alger-Irrigué (E1) et H'Madna-Irrigué (E3).

Cependant, l'environnement de H'Mmadna-Pluvial (E4) a le vecteur le plus court donc non discriminant pour les génotypes (Figure 22 et Tableau 20), par conséquent, il se classe dans le type 1 comme inutile. Cela signifie selon Yan *et al.* (2007), que le fait que tous les génotypes se sont comportés de manière similaire, que cet environnement fourni peu ou pas d'informations sur les différences génotypiques, ce qui l'écarte d'être utilisé comme environnement test.

Par contre, l'environnement test d'Alger-Pluvial (E2) a un vecteur long (Figure 22), ce qui signifie qu'il est discriminant, et il se classe selon le Tableau 20 dans le type 2 comme un environnement idéal pour sélectionner des génotypes supérieurs. Par conséquent, les cultivars les plus productifs dans cet environnement sont (Tableau 15) : Mamuntanas (G5 avec 30,03 q/ha) suivi du Sardi 10 (G7 avec 29,77q/ha), puis Ecotipo Sicilien (G1) et Ameristand 801S (G4) qui ont le même rendement en matière sèche de 28,86 q/ha. D'ailleurs, si les contraintes budgétaires ne permettent que quelques environnements de test, les environnements de type 2 sont toujours le premier choix (Yan *et al.*, 2007).

Les deux environnements conduits en irrigué, Alger-Irrigué (E1) et H'Madna-Irrigué (E3) ont des vecteurs longs et de grands angles avec l'axe AEA, donc ils se classent dans le type 3 (Tableau 20) qui voudrait indiquer qu'ils sont utiles pour éliminer les génotypes instables, mais ils ne peuvent pas être utilisés pour sélectionner des génotypes supérieurs.

Tableau 20 : Trois types d'environnements test basés sur l'évaluation des environnements (Yan *et al.*, 2007), avec projection des 4 environnements testés dans notre étude

	Discriminant (le vecteur le plus long) $E1 > E2 = E3$	Non Discriminant (le vecteur le plus court) : E4
Représentatif (situé le plus proche de l'axe AEA) E4 et E2	Type 2 : Idéal pour sélectionner des génotypes supérieurs : E2	Type 1 : inutile : E4
Non représentatif (situé le plus loin de l'axe AEA) E3 et E1	Type 3 : utile pour éliminer les génotypes inférieurs : E3 et E1	Type 1 : inutile

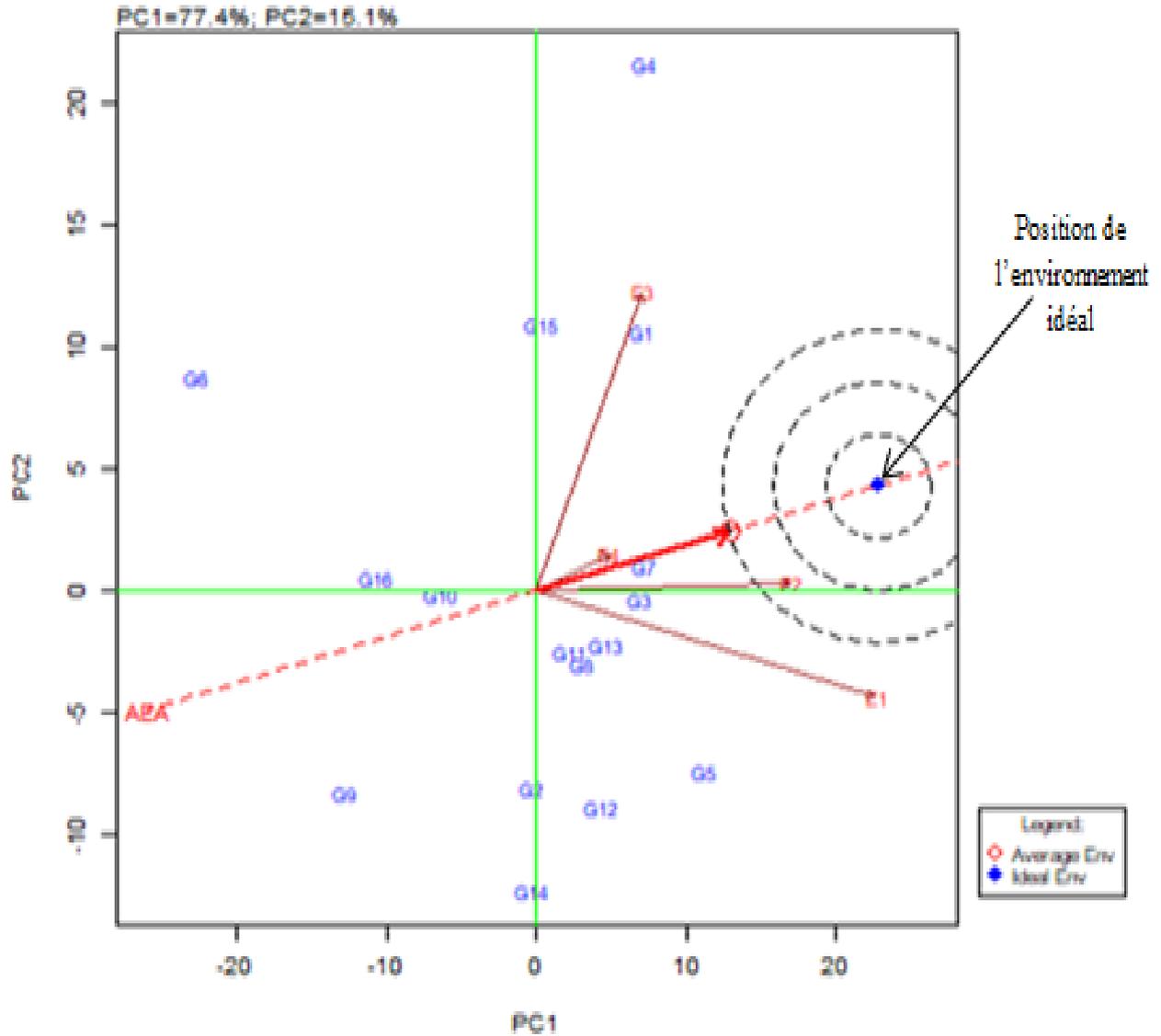


Figure 22 : GGE biplot représentant le classement des environnements en fonction de la représentativité et la capacité discriminante, à $G + GE = 92,5\%$. Les génotypes sont nommés de G1   G16 et les environnements d'E1 to E4 (voir les Tableaux 14 et 15).

Le biplot du « pouvoir discriminant vs représentativité » est appropri e pour visualiser les relations entre les environnements, ainsi, dans un méga-environnement unique, les environnements tests doivent être  valu es pour être ou non représentatifs de l'environnement cible et pour leur pouvoir de discrimination entre les génotypes afin d'identifier les environnements qui présentent efficacement les génotypes supérieurs (Yan *et al.*, 2007).

4.2. Evaluation des génotypes (Performance et stabilité génotypique)

La Figure 23 présente le GGE biplot qui évalue les 16 génotypes en termes de performance et de stabilité, avec une capture de 92,5% du total G + GE. L'axe des abscisses AEA est la ligne à une seule flèche dans la direction d'une performance moyenne supérieure des génotypes. L'axe des ordonnées est la ligne à double flèche qui traverse l'origine du biplot (rendement moyen) et perpendiculaire à l'axe des abscisses, et désigne la stabilité des 16 génotypes étudiés.

Ainsi, les génotypes sont classés selon l'effet génotypique (G) comme suit (Figure 23) : G4 > G5 > G1 > G7 > =G3 >G13 >G12 >=G8>=G15 >G11 >Moyenne (27,28 q/ha) >G2 > =G14 >G10 >G16 >G9 >G6. De ce fait, dans un méga-environnement unique, les génotypes les plus performants sont : Ameristand 802S (G4), Mamuntanas (G5) et Ecotipo sicilien (G1), tandis que, Tamantit (G6), Africaine (G9) et Demnat 203 (G16), sont les moins performants.

L'axe AEA rapproche les contributions des génotypes à G, l'axe des ordonnées va rapprocher des contributions des génotypes à GE, ce qui constitue une mesure de leur stabilité ou de leur instabilité (Yan *et al.*, 2007). Ainsi, dans la Figure 23, l'Ecotipo Sicilien (G1) est le génotype le plus stable, comme il est le plus proche de l'axe des abscisses, et a une projection proche de zéro sur l'axe des ordonnées. Cela indique que son classement était très cohérent dans les environnements testés. En revanche, Mamuntanas (G5) et Ameristand 802S (G4) sont des génotypes les moins stables avec des performances moyennes supérieures à la moyenne.

Dans un méga-environnement unique, les cultivars doivent être évalués pour leur performance moyenne et leur stabilité dans les environnements tests, ainsi, un génotype idéal doit avoir à la fois une performance moyenne élevée et une grande stabilité (Yan *et al.*, 2007). Par conséquent, dans notre étude, l'Ecotipo Sicilien (G1) peut être considéré comme idéal.

Afin d'identifier les génotypes les plus performants et les plus stables en deux localités en Turquie, l'analyse de GGE Biplot a été utilisée et s'est avérée efficace pour l'objectif visé (Budak & Kizil-Aydemir, 2018). En effet, le rendement et la stabilité des performances doivent être considérés simultanément pour réduire l'effet de l'interaction GE et pour rendre la sélection des génotypes plus précise (Mahmodi *et al.*, 2011).

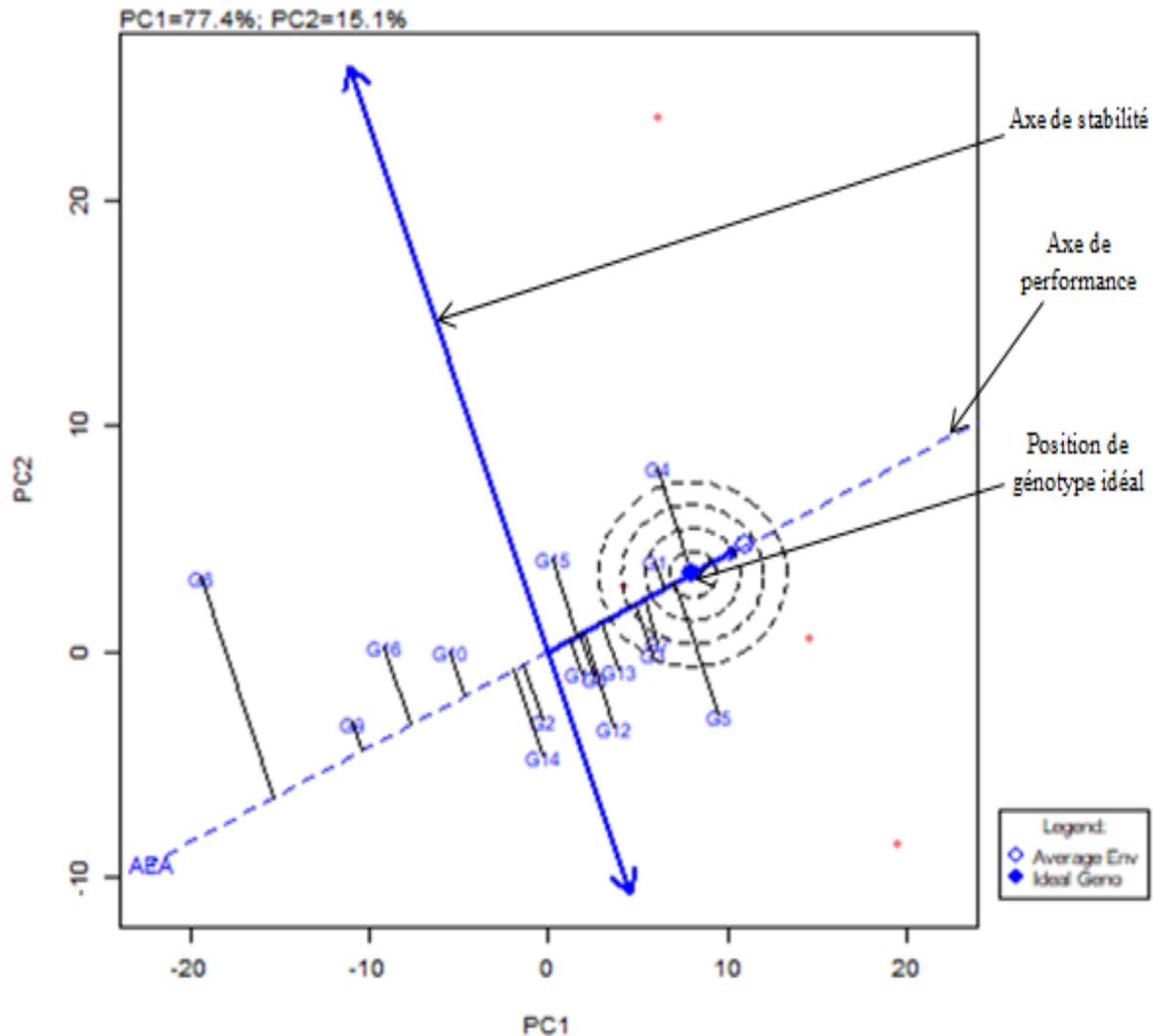


Figure 23 : GGE biplot de la performance et stabilité génotypique, avec $CP1+CP2= 92,5\%$ du total $G + GE$. Les génotypes sont nommés de G1 à G16 et les environnements d'E1 to E4 (voir les Tableaux 14 et 15).

4.3. Analyse méga-environnement

Les méga-environnements sont visualisés grâce au biplot « which-won-where (qui-a gagné-où) » (Figure 24), décrit par (Yan *et al.*, 2001) comme suit : « les marqueurs des cultivars les plus éloignés de l'origine du biplot sont connectés avec des lignes droites pour former un polygone de manière à ce que les marqueurs de tous les autres cultivars soient contenus dedans. De chaque côté du polygone, une ligne perpendiculaire, à partir de l'origine du biplot, est dessinée et étendue au-delà du polygone de sorte que le biplot soit divisé en plusieurs secteurs et que les marqueurs des environnements testés soient séparés dans différents secteurs.

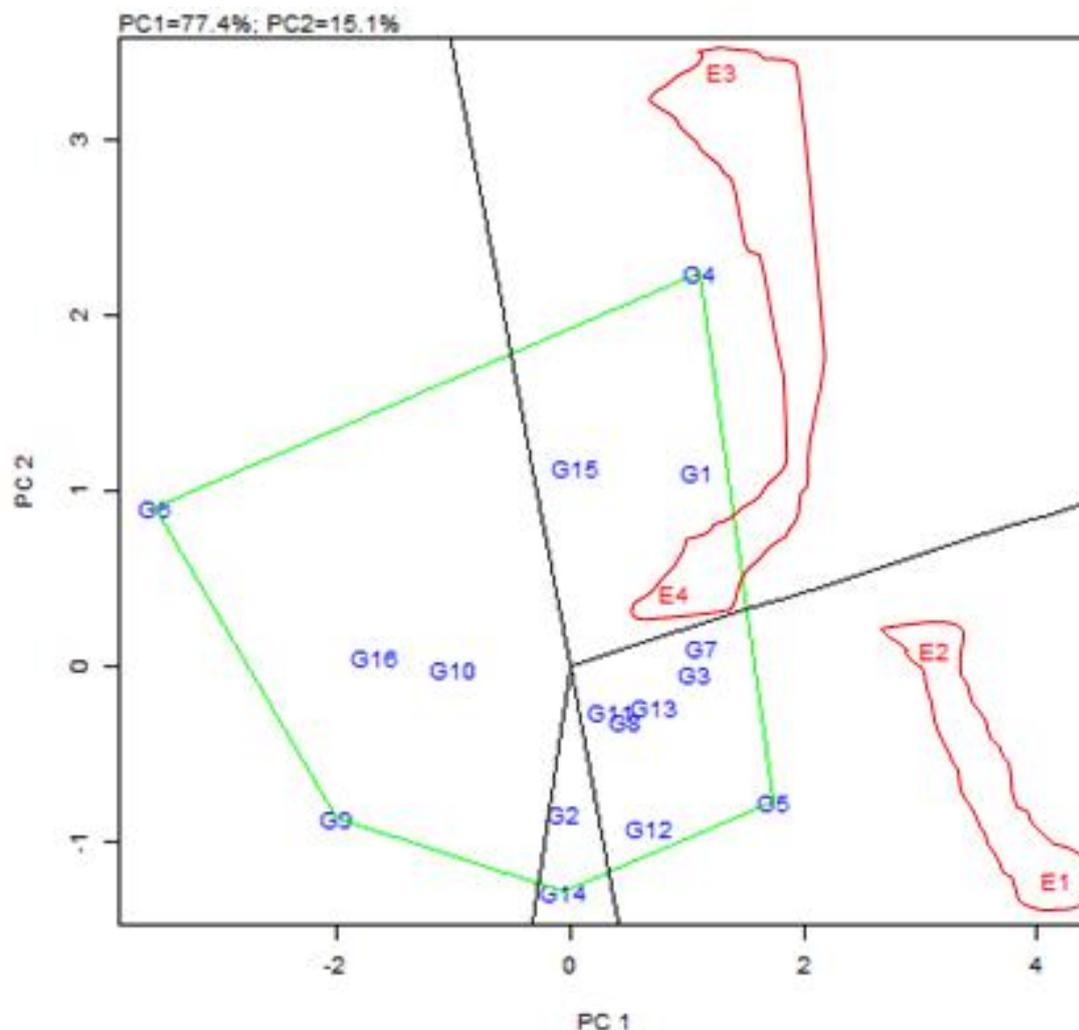


Figure 24 : GGE-biplot "which-won-where=qui a gagné où", représentant les génotypes supérieurs pour chaque environnement test expliquant 92,5% du total G+GE. Les génotypes sont nommés de G1 à G16 et les environnements d'E1 to E4 (voir les Tableaux 14 et 15).

Le polygone du GGE biplot de notre étude est présenté par la Figure 24. Ainsi, ce GGE biplot met en évidence deux méga-environnements différents (sous-régions), à savoir : la zone 1 d'Alger représentée par les environnements E1 et E2 ; et la zone 2 de H'Madna représentée par les environnements E3 et E4. En effet, les environnements ayant le même secteur partagent les mêmes meilleurs génotypes (Yan *et al.*, 2000). De plus, le cultivar au sommet de chaque secteur est le plus performant dans les environnements inclus dans ce secteur (Yan *et al.*, 2001).

Les génotypes les plus performants par zones se situent aux têtes du polygone. Par conséquent, G5 (Mamuntanas) et G4 (Ameristand 802S) sont les meilleurs génotypes dans la zone 1 et 2 respectivement (Figure 24). De plus, la zone 1 (Alger) est caractérisée par

plusieurs génotypes élites tels que les cultivars français (G11-Magali, G12-Melissa et G13-Coussouls), les deux cultivars australiens (G7-Sardi 10 et G8-Siriver) et enfin, le cultivar américain G3 (ABT 805) ; alors que G1 (Ecotipo Sicilien) et G15 (Erfoud 1) sont élites dans la zone 2 (H'Madna) (Figure 24).

Une interaction majeure est attendue lorsqu'il y a une grande variation entre les génotypes pour une résistance à un ou plusieurs stress, et, une grande variation entre les environnements pour les mêmes stress (Annicchiarico, 2002). Ceci interprète la performance des cultivars résistants à la salinité (Ameristand 802S et Erfoud 1) dans le site de H'Madna à salinité élevée.

La variance de l'interaction GE est petite comparée à la variance génotypique; ce qui réduit l'avantage possible de la sélection pour une adaptation spécifique (Annicchiarico, 2002).

Selon Annicchiarico (2002), dans la sélection pour une large adaptation, le but est d'obtenir une variété qui fonctionne bien dans presque tous les environnements ; tandis que dans la sélection pour une adaptation spécifique, le but est d'obtenir une variété qui se comporte bien dans un sous-ensemble défini d'environnements au sein d'une région cible.

Bien que, de nombreuses statistiques ont été proposées pour caractériser la stabilité des cultivars, mais aucune de ces méthodes n'indique explicitement comment la stabilité peut être combinée avec le rendement moyen lors du choix de cultivars supérieurs (Eskridge, 1990).

Le modèle AMMI convient mieux à la recherche agricole car la partie ANOVA de l'AMMI peut séparer les effets principaux G et E et les effets d'interaction GE, alors que la séparation de G et de GE est une impossibilité mathématique pour l'analyse GGE (Gauch *et al.*, 2008).

IV. Conclusion et perspectives

L'effet du milieu a été le principal déterminant de la variation de la réponse observée dans cette étude. Donc, la sélection doit viser les variétés ayant les meilleures opportunités de réussir dans la plupart des conditions agro-climatiques, sous les contraintes abiotiques et biotiques dominantes. De plus, des rendements stables sont nécessaires dans de telles conditions imprévisibles et, par conséquent, il convient de recommander des cultivars ayant un bon rendement et une bonne stabilité.

L'objectif de la présente étude est d'évaluer les effets GEI sur les 16 géotypes cultivés sur les deux sites différents (Alger et H'Madna) et conduits sous deux régimes hydriques (pluvial et irrigué), il est atteint grâce à l'application des deux modèles statistiques AMMI et GGE. En effet, les résultats de ces deux modèles ont permis :

- De visualiser graphiquement les performances en rendement et stabilité des 16 géotypes de luzerne testés dans 4 environnements différents, où les meilleurs géotypes sont : Mamuntanas et Ameristand 802S, pour Alger et H'Madna, respectivement. Tandis que, Tamantit, Africaine et Demnat 203, sont les moins performants ;
- De visualiser graphiquement les performances en stabilité des 16 géotypes de luzerne testés dans 4 environnements différents, où le cultivar « Ecotipo sicilien » c'est avéré le plus stable avec un rendement moyen assez intéressant. Alors que, Mamuntanas et Ameristand 802S sont les géotypes les moins stables avec des performances moyennes supérieures à la moyenne totale ;
- Sous les conditions pluviales, les cultivars tels que Ameristand 801S, Ecotipo Sicilien et Erfoud1 pourraient être suggérés pour H'Madna, alors que Mamuntanas, Sardi 10, Ecotipo Sicilien et ABT805 pourraient être proposés pour Alger.

Selon l'analyse de GGE :

- L'environnement H'Madna-pluvial est classé comme inutile pour évaluer les performances des 16 géotypes de luzerne ;
- L'environnement d'Alger-pluvial est classé comme l'environnement idéal pour sélectionner les géotypes performants, qui sont par ordre décroissant : **Mamuntanas**, **Sardi 10**, Ecotipo Sicilien et Ameristand 801S ;
- Les deux environnements conduits en irrigué, Alger-irrigué et H'Madna-irrigué sont classés utiles pour éliminer les géotypes instables, mais ils ne peuvent pas être utilisés pour sélectionner des géotypes supérieurs.
- L'Ecotipo Sicilien peut être considéré comme le géotype idéal car il est le plus stable avec une performance moyenne élevée ;
- Deux méga-environnements différents ont été mis en évidence qui sont : la zone 1 d'Alger représentée par les deux environnements tests Alger-irrigué et Alger-pluvial ;

et la zone 2 de H'Madna représentée par H'Madna-irrigué et H'Madna-pluvial. De plus, dans la zone d'Alger plusieurs génotypes sont considérés élites : les cultivars français (Magali, Melissa et Coussouls), les deux cultivars australiens (Sardi 10 et Siriver) et enfin, le cultivar américain (ABT 805) ; alors que le cultivar italien (Ecotipo Sicilien) et marocain (Erfoud 1) sont élites dans la zone de H'Madna.

Pour notre étude, en irrigué les cultivars supérieurs à savoir Mamuntanas pour le site d'Alger et Ameristand 802S pour le site de H'Madna, peuvent être recommandés, mais en pluvial il vaut mieux opter pour le matériel stable qui est Ecotipo sicilien.

Cependant, pour mieux évaluer la stabilité du matériel génétique testé, le même type d'expérimentations devrait être répété dans plusieurs sites en Algérie, par exemple dans les zones arides et où les sols sont plus affectés par la salinité.

En fait, ces seize cultivars peuvent être utilisés à travers le territoire national selon leurs performances d'adaptation, comme sont déjà utilisés dans leur pays d'origine, à savoir les cultivars tolérants la salinité comme « **Erfoud 1** » largement cultivé dans les zones à salinité élevée du Maroc, « Gabès 2355 » en oasis de Tunisie et « Tamantit » aux oasis algériennes.

En effet, notre étude s'est limitée à un nombre d'environnements de 4 seulement et pour deux sites à savoir Alger et H'Madna. Ceci ne nous permet pas de choisir parmi les 16 génotypes ceux adaptés aux différentes zones agricoles de l'ensemble du territoire national mais peuvent être utilisés pour les zones à conditions similaires à celles étudiées ce qui est déjà une avancée importante dans le choix des variétés de luzerne en Algérie.

Comme première étape, les résultats obtenus encouragent l'utilisation par les développeurs des variétés adaptées et performantes choisies à partir des 16 variétés de luzerne méditerranéennes étudiées. La production de semences de ces variétés de luzerne qui sera assurée par le CNCC permettra sûrement le développement de cette culture dans différentes régions en Algérie pour assurer une augmentation de la production fourragère. En effet, Il y a urgence extrême d'améliorer et de produire des semences fourragères bien adaptées à nos exigences pédoclimatiques car avec les dernières augmentations des prix des aliments de bétails importés, les filières stratégiques lait et viande sont fortement touchées et menacent de ce fait la sécurité alimentaire du pays.

En deuxième étape et compte de la variation des réponses observées dans cette étude, les cultivars testés pourraient être utilisés comme matériel de sélection de base pour développer

des variétés de luzerne très adaptées à la sécheresse et à la salinité, et, malgré leur faible rendement, les cultivars nord-africains pourraient être intéressants dans de futurs programmes de sélection, en particulier dans les régions arides à haute température.

L'idée que nous proposons, c'est de faire des croisements qui peuvent être intéressants pour les conditions pédoclimatiques en Algérie, surtout par rapport à la sécheresse et à la salinité qui gagnent de plus en plus de surfaces, sans négliger les aspects de températures élevées au sud algérien, ainsi que les maladies qui réduisent le rendement et la qualité de la luzerne. A titre d'exemple, l'un des parents choisis pour ces croisements doit être obligatoirement un des cultivars locaux, qui sont nombreux au sud algérien et qui ont fait preuves de tolérance au sel et aux hautes températures.

Dans ce sens et au niveau méditerranéen, trois cultivars à savoir : **Erfoud 1**, **Mamuntanas** et **Sardi 10**, ont été choisis pour un programme d'amélioration dans le cadre d'un projet de recherche REFORMA qui fait suite au travail réalisé dans ce chapitre et a ceux réalisés par d'autres partenaire de pays méditerranéen (projet UE-PERMED). Le choix de ces trois cultivars est fait sur la base de leur productivité, résistance à la sécheresse-froid et/ou à la salinité, et de leur stabilité pas seulement en Algérie mais au niveau du bassin Méditerranéen (Annicchiarico *et al.*, 2011 ; Annicchiarico *et al.*, 2015). L'intercroisement de ces variétés à permis de produire 151 progénitures qui ont fait l'objet de sélection. Ce travail de sélection est expliqué dans les chapitres III et IV.

Chapitre III : Sélection de cultivars de luzerne adaptés au mode pluvial en région à déficience en eau modéré (Alger)

I. Introduction

Les semences de graminées et de légumineuses fourragères allogames sont généralement des variétés synthétiques étant produites à partir de deux ou de plusieurs génotypes parentaux (Bouharmont, 1994). D'ailleurs, les variétés de luzerne sont des populations synthétiques obtenues par l'intercroisement libre de plusieurs plantes parentales pendant 3 à 4 générations, qui hébergent donc une forte variabilité intra-variétale (Julier *et al.*, 2014).

Le programme de multiplication de semences fourragères en Algérie est nettement insuffisant et reste tributaire de l'importation (Hamrit, 1995). De ce fait, l'Algérie a fortement besoin de produire des semences fourragères localement, et donc, l'amélioration des variétés bien adaptées à ses exigences pédoclimatiques est une urgence extrême. La culture de luzerne pérenne est tributaire totalement de l'importation des semences de l'étranger.

Ce chapitre est le continuum au chapitre II puisque les cultivars élites sélectionnés dans la région méditerranéenne se sont ceux qui ont servi de géniteurs pour la création de population « demi-frère » (151 familles) sur lequel la sélection a portée. En effet, au niveau de la station expérimentale de l'Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie (ENSA), un essai a porté sur l'étude du comportement et de cette population, 151 génotypes de luzerne pérenne (*Medicago sativa* L.), durant 5 années d'exploitation. Ceci a été réalisé en conditions pluviales sans irrigation, afin de sélectionner les meilleurs génotypes en vue de produire une variété synthétique adaptée au mode pluvial sous climat sub-humide d'Alger. Donc, l'objectif de ce chapitre est de sélectionner les meilleurs génotypes basés sur l'évaluation phénotypique, pour produire une semence synthétique Syn1 de luzerne adaptée au climat sub-humide d'Alger.

Les données recueillies pour cette étude ont été générées par plusieurs Masters (Bentamra D. et Koribaa I. 2013-2014, Lomri O. 2014-2015, Lagoune H. 2017-2018), en plus de la thèse de doctorat de Achir C de 2015-2016 à 2018-2019.

La présente étude a été réalisé dans le cadre du projet REFORMA « Des cultures annuelles et fourragères résilientes, économes en eau et en énergie pour les systèmes agricoles méditerranéens » qui est un projet ArimNet coordonné au niveau international par le Pr. Paolo Annicchiarico du CREA-FLC, Italie et au niveau algérien par le Pr. Meriem LAOUAR de LAPV-ENSA, Algérie. L'objectif principal de ce projet est de renforcer la durabilité

économique et environnementale des systèmes fourragers méditerranéens, et améliorer également leur autosuffisance en protéines alimentaires et leur capacité à s'adapter au changement climatique, et ceci, en développant des systèmes plus résistants et plus économes en eau et en énergie basés sur des légumineuses fourragères (<http://reforma.entecra.it/>).

II. Matériel et méthodes

2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est le résultat d'un croisement entre trois cultivars élites adaptées aux environnements de climat méditerranéen en pluviale Annicchiarico *et al.*, 2011 ; Achir *et al.*, 2020). Ces cultivars sont « Mamuntanas » d'origine italienne à dormance automnale de 7, qui est considérée comme le plus tolérant aux conditions de sécheresse, « SARDI 10 » variété australienne à dormance automnale de 10, qui a montré une adaptation moyenne à toutes les conditions, et le cultivar « Erfoud 1 » d'origine oasisienne du Maroc à dormance automnale de 9, qui est bien adapté aux conditions de salinité du sol.

Le croisement a été effectué au niveau de CREA-FLC (Lodi, Italie) par des intercroisements libres (polycross) en deux cycles. Le premier intercroisement s'est déroulé en 2009, en démarrant avec 210 plants dont 70 plants ont été choisis au hasard pour chaque cultivar parent (Figure 25). Puis une graine par plant a été récoltée et semée pour réaliser le deuxième intercroisement en 2010 (Figure 25). Une graine par plant a été récoltée parmi les 151 plants choisis au hasard en plus des graines des 3 parents, pour constituer l'échantillon parental (Figure 25).

Les semences de ces descendants demi-frères ont été obtenues en 2011 et 2012 à partir de trois grandes cages d'isolement, chacune comprenant trois blocs de croisement complets de génotypes randomisés (9 clones de chaque génotype), et la pollinisation contrôlée de toutes les générations a été assurée par des bourdons (*Bombus terrestris* L.) (Annicchiarico *et al.*, 2015).

Les graines des 154 génotypes de luzerne étudiés ont été produites et distribuées par CREA-FLC pour la mise en place de l'essai d'évaluation phénotypique à ENSA.

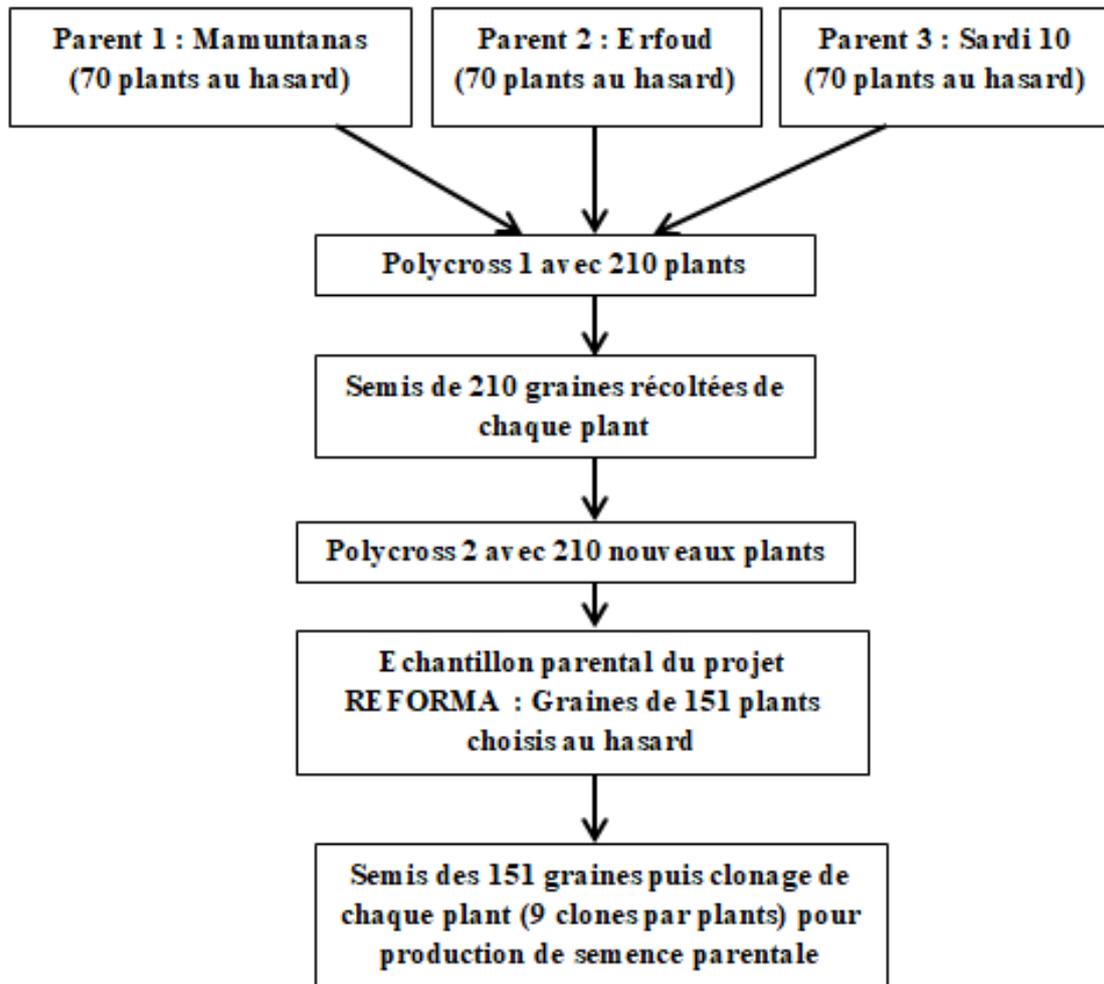


Figure 25: Schéma de la procédure de sélection de l'échantillon parental

2.2. Conditions expérimentales

A. Localisation

L'essai est installé au niveau de la station expérimentale de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique d'El Harrach, Alger (Figure 26) en 2014. Il est situé à une latitude de 36°43'N, une longitude de 3°08'E et une altitude de 50 m au-dessus de niveau de la mer, et appartenant à l'étage bioclimatique subhumide à hiver doux.



Figure 26 : Photographie aérienne du site expérimental (Google Earth, 2017)

B. Caractéristiques édaphiques

Les analyses du sol ont été réalisées, au niveau du laboratoire des sciences du sol au sein du département de production végétale (ENSA), sur deux périodes différentes, l'une avant installation de l'essai (Bentamra et Koribaa, 2014) et l'autre en cours de la 3^{ème} année après installation (Lagoune, 2017). Quatre échantillons du sol sont prélevés à l'aide d'une tarière sur une profondeur de 20 cm suivant les deux diagonales de l'essai, puis ils ont été séchés, broyés et tamisés (2 mm et 0,2 mm) puis analysés, et le Tableau 21 récapitule les résultats. Le sol est basique, non salin, non calcaire, pauvre en matière organique, et caractérisé par une texture argilo-limoneuse. Cependant, il s'est avéré riche en phosphore assimilable même après 3 ans de l'installation de la luzerne, bien qu'il se soit appauvri de près de 68% par rapport à l'année d'installation.

Tableau 21: Caractéristiques physico-chimiques du sol avant l'installation et à la 3^{ème} année d'installation de la luzernière

Type d'analyse	2013-2014		2016-2017		Méthodes	Normes
	Résultats	Interprétation	Résultats	Interprétation		
Granulométrie	Argile=14,10% Limon=43,45% Sable fin=15,12% Sable grossier=24,60%	Sol à texture Argilo-limoneuse	/		Pipette de ROBINSON Triangle de textures U.S.D.A 1986	
PH eau	7,95	Sol basique	7,86	sol basique	Méthode électrométrique PH mètre	7,5 à 8,7 U.S.S.L.1954
PH KCl	6,96		6,80		Méthode électrométrique PH mètre	
Δ PH	0,99	Acidité potentielle moyenne	1,06	sol désaturé	PH eau -PH KCl	0,5< >1
Conductivité électrique (dS/m)	0,31	Sol non salin	0,143	sol non salin	Conductimètre U.S.S.L.1954 (0,6 à 14)	<2
N Total (%)	/	/	1,75	sol riche en Azote total	Méthode de KJELDAHLE 1883	
CaCO₃ Total (%)	2,06	Sol pauvre en calcaire total	0,89	sol non calcaire	Calcimètre de BERNARD	<3
P₂O₅ assimilable (ppm)	56,32	sol très riche en P ₂ O ₅	17,89	Assez de bonne Teneur en Phosphore assimilable	JORET-HEBERT 1955	<30 (16 à 25 ppm)
C %	0.86	sol très pauvre en M.O	1,03	Sol pauvre en MO	Méthode ANNE 1945	1,1 à 3,2
MO %	1.5	sol très pauvre en MO	1,77	sol très pauvre en MO	MO % = C % * 1,72	2 à 6

Source : Bentamra et Koribaa, 2014 ; Lagoune, 2017

C. Conditions climatiques et les besoins en irrigation d'appoint

Le Tableau 22 résume les caractéristiques climatiques (pluviométrie et températures) durant la conduite de l'essai, où l'on note que la dernière campagne (2017-2018) de suivi était la plus pluvieuse avec environ 24% de plus que la moyenne des 5 campagnes.

L'essai s'est déroulé dans des conditions pluviales, et il a reçu une quantité de pluie totale (5 années) de 2993 mm dont près de 63,7% ont été reçus lors des trois années d'exploitations 2015-2018, et 36,3% lors des années d'installation 2013-2015 (Tableau 22). La pluviométrie annuelle moyenne est de 598,60 mm pendant les 5 années de croissance et 635,67 mm durant les 3 dernières années de suivi considérées dans notre étude. En effet, les deux premières années sont pour l'installation de la luzerne.

Les Figures 27 à 31 illustrent les diagrammes Ombrothermiques de Bagnouls et Gausson, avec indication des périodes des coupes réalisées durant chaque année (années d'installation 2013-2014 ; 2014-2015 et années d'exploitation 2015-2016, 2016-2017, 2017-2018). Ces diagrammes Ombrothermiques montrent des périodes humides et sèches différentes sur l'ensemble des années de suivi de l'expérimentation.

Durant les deux années d'installations, des irrigations d'appoint par aspersion ont été apportées à la luzernière pour atténuer l'effet du manque de précipitations durant les mois d'avril, mai et juin et afin de permettre à la luzerne d'atteindre le stade floraison avant d'être fauchée. Le Tableau 23 présente les détails des irrigations apportées.

Tableau 23 : Date, durée et fréquence d'irrigation appliquée à la luzernière durant les deux années d'installation (2013-2014 et 2014-2015)

Date d'irrigation	Durée/fréquence d'irrigation	Réplication
30 avril 2014	1 heure et 30 minutes	1 et 2
05 mai 2014	2 heures	1 et 2
19 juin 2014	2 heures	1 et 2
Avril-juin 2015	8 fois	3 et 4

Tableau 22 : Caractéristiques climatiques durant la conduite de l'essai

	2013-2014	2014-2015	2015-2016 (1)	2016-2017 (2)	2017-2018 (3)	Total (1)+(2)+(3)	Moyenne (1)+(2)+(3)	Total 2013-2018	Moyenne 2013-2018
Pluviométrie annuelle (mm)	550	536	588	529	790	1907 (63,70%)	598,60	2993	635,67
Température minimale mensuelle (°C)	12,2	12,4	15,1	13,4	13	-	13,83	-	13,20
Température maximale mensuelle (°C)	26,6	27,2	25,4	27,5	26,8	-	26,56	-	26,70

Source : Infoclimat, 2019

Durant la campagne 2015-2016, la période humide s'étale sur 5 mois ; les mois d'octobre et novembre, et de janvier à mars, alors que la période sèche est plus longue (7 mois), et concerne les mois de décembre et d'avril à septembre (Figure 29). Six coupes sont réalisées durant cette année, avec trois coupes en période humide et trois en période sèche.

Durant 2016-2017, la période humide couvre seulement 4 mois, de novembre à janvier et le mois de mars, avec seulement 2 coupes, tandis que la période sèche est de 8 mois (février et d'avril à octobre) où 5 coupes ont été réalisées dans cette période (Figure 30).

La période humide est la plus grande durant la dernière année de suivi (2017-2018), qui s'étale sur 6 mois de novembre à avril où toutes les coupes (4 coupes) ont été réalisées durant cette période, tandis que la période sèche s'étale sur 6 mois du mois de mai au mois d'octobre (Figure 31).

Pour la température moyenne mensuelle, le mois le plus froid de l'année est : le mois de décembre (12,2 et 12,4°C) respectivement pour les années d'installation 2013-2014 et 2014-2015 ; le mois de mars (15,1°C) pour 2015-2016 ; janvier (13,4°C) pour 2016-2017 ; et février (13°C) pour 2017-2018. Tandis que, le mois le plus chaud est toujours le mois d'août avec une température moyenne mensuelle qui varie légèrement durant les années de l'expérimentation (Tableau 22).

Les coupes sont réalisées de décembre à juillet. Cependant, la plupart des coupes (3 à 5) sont réalisées de mars à juillet, ce qui coïncide avec moins de 25% des pluies annuelles, à l'exception de la campagne 2017-2018 qui était la plus pluvieuse durant notre étude (Tableau 22 et Figures 27 à 31).

Depuis l'installation de l'essai 23 fauches ont été réalisées durant les campagnes 2013/2014 à 2017-2018 (Tableau 23). En effet, les 6 premières fauches ne sont pas prises en compte dans les analyses statistiques, car elles sont considérées comme des années d'installation et qui risque de fausser les résultats.

Le nombre de coupe durant les années de l'installation sont de six. Le nombre de coupes durant les trois années d'exploitation sont de 17 avec en moyen 5,67 par année (Tableau 24 et Figures 27 à 30).

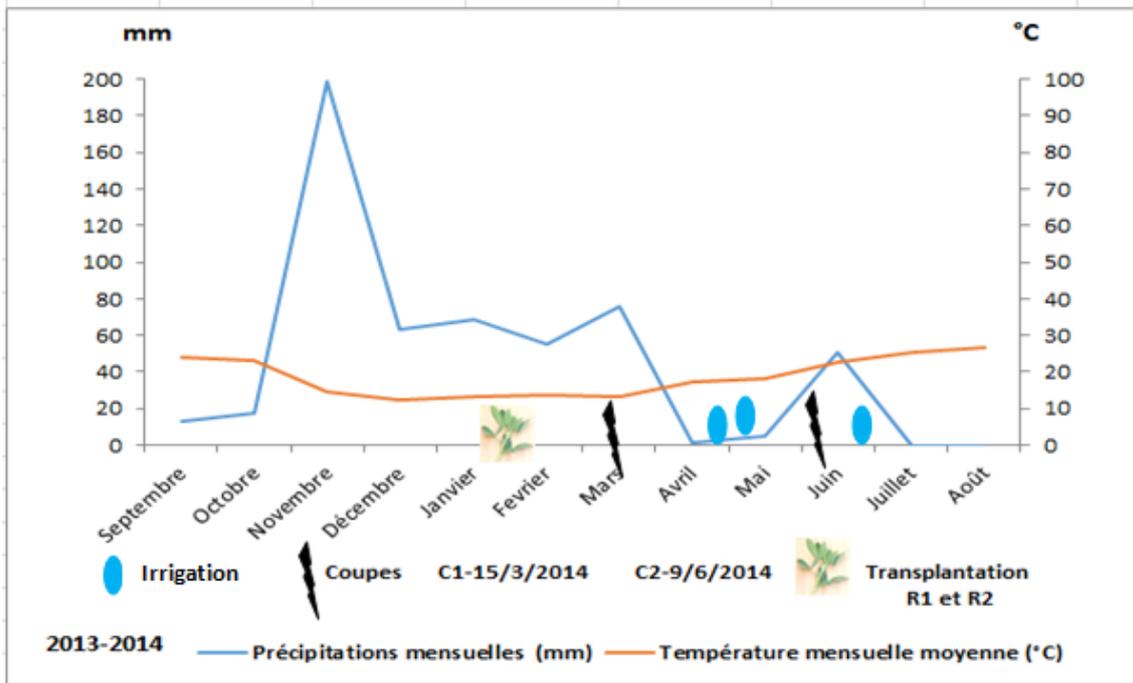


Figure 27 : Diagramme Ombrothermique avec coïncidence des coupes pour la campagne 2013/2014

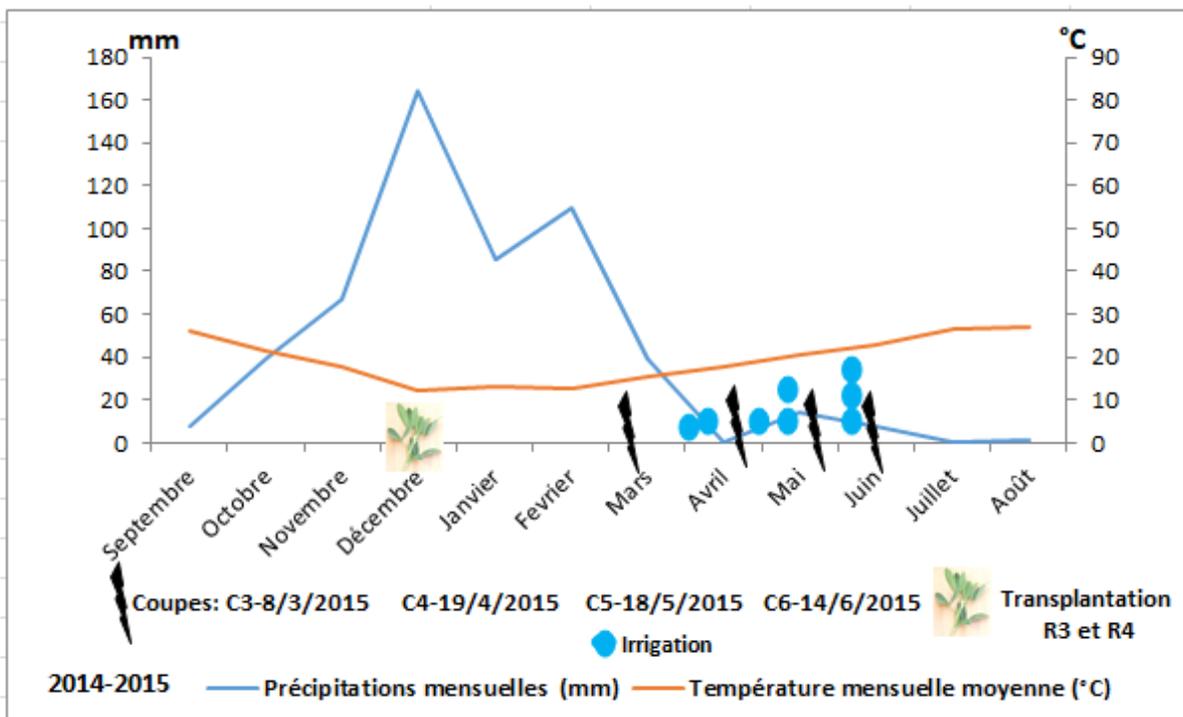


Figure 28 : Diagramme Ombrothermique avec coïncidence des coupes pour la campagne 2014/2015

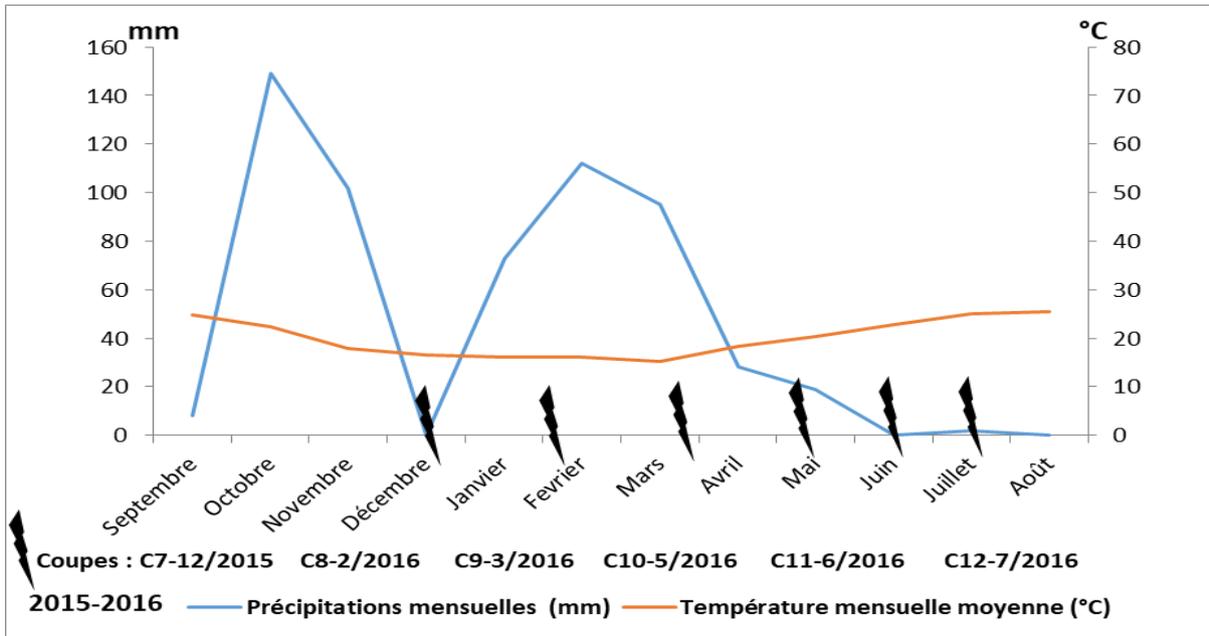


Figure 29 : Diagramme Ombrothermique avec coïncidence des coupes pour la campagne 2015/2016

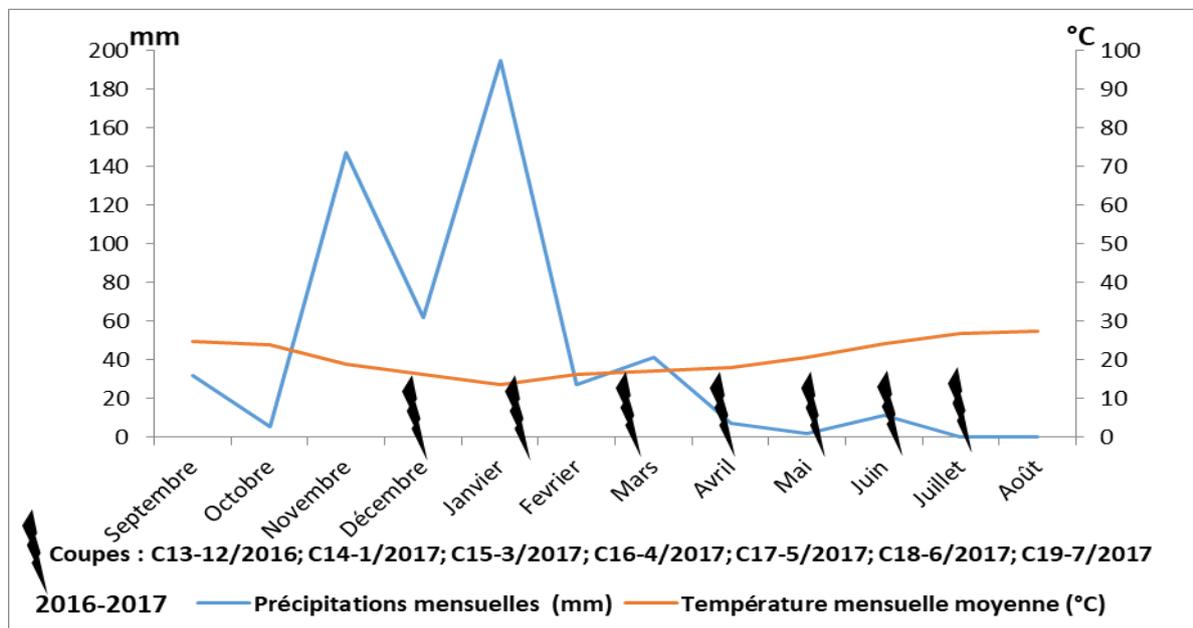


Figure 30: Diagramme Ombrothermique avec coïncidence des coupes pour la campagne 2016/2017

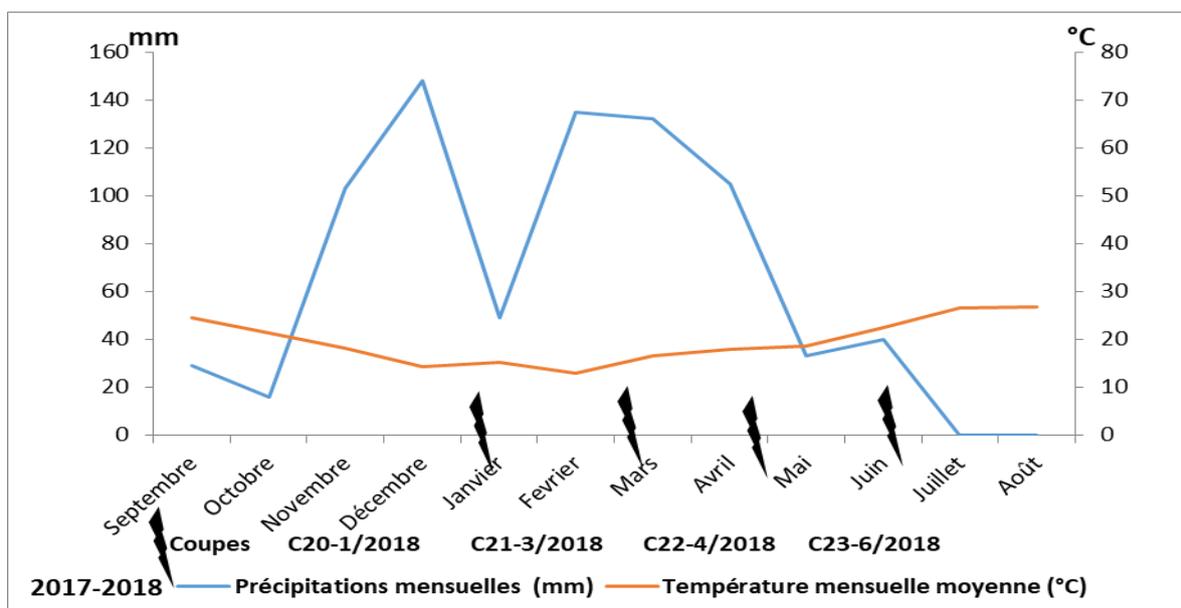


Figure 31 : Diagramme Ombrothermique avec coïncidence des coupes pour la campagne 2017/2018

Tableau 24 : Données sur le total des 23 fauches réalisées durant toute la période du développement de la luzerne (5 années)

N° de la fauche	La date de la fauche	Campagne agricole	Nombre de coupes
Fauche 1'	Mars 2014	2013-2014	2
Fauche 2'	Juin 2014		
Fauche 3'	Mars 2015	2014-2015	4
Fauche 4'	Avril 2015		
Fauche 5'	Mai 2015		
Fauche 6'	Juin 2015		
Fauche 1	Décembre 2015	2015-2016	6
Fauche 2	Février 2016		
Fauche 3	Mars 2016		
Fauche 4	Mai 2016		
Fauche 5	Juin 2016		
Fauche 6	Juillet 2016		
Fauche 7	Décembre 2016	2016-2017	7
Fauche 8	Janvier 2017		
Fauche 9	Mars 2017		
Fauche 10	Avril 2017		
Fauche 11	Mai 2017		
Fauche 12	Juin 2017		
Fauche 13	Juillet 2017		
Fauche 14	Janvier 2018	2017-2018	4
Fauche 15	Mars 2018		
Fauche 16	Avril 2018		
Fauche 17	Juin 2018		

2.3. Mise en place de l'essai

L'essai a été installé en deux années consécutives, à savoir les deux réplifications 1 et 2 en 2013/2014 et les deux réplifications 3 et 4 en 2014/2015.

Le semis a été réalisé en décembre 2013 (réplification 1 et 2) et en octobre 2014 (réplifications 3 et 4) dans une serre plastique. Les graines ont été semées dans des plaques alvéolées (105 alvéoles par plaque) remplies de terreau à raison de 2 graines par alvéole. Des irrigations manuelles ont été réalisées tous les jours durant deux mois.

Le travail du sol réalisé est un labour profond suivi par un passage d'un cover crop et d'une herse canadienne.

En effet, c'est une transplantation de plantules de 3 à 4 feuilles qui a été réalisé en plein champ, après 2 mois du semis (stade 3 à 4 feuilles). Les plants ont été transplantés entre janvier et février 2014, pour les réplifications 1 et 2, et en décembre 2014 pour les réplifications 3 et 4.

C. Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental est un alpha lattice à 4 réplifications, chaque réplification comprend 14 blocs incomplet contenant 11 plot (micro-parcelle) chacun (Figure 32 et 33). Le plot contient 9 colonnes et 8 lignes ce qui correspond à 72 plants avec une distance de 10 cm. entre les plants. La distance entre les blocs est de 1m et la superficie totale de l'essai est de 1196 m² (52m*23m). L'affectation des familles sur les plots est faite aléatoirement pour chaque réplification

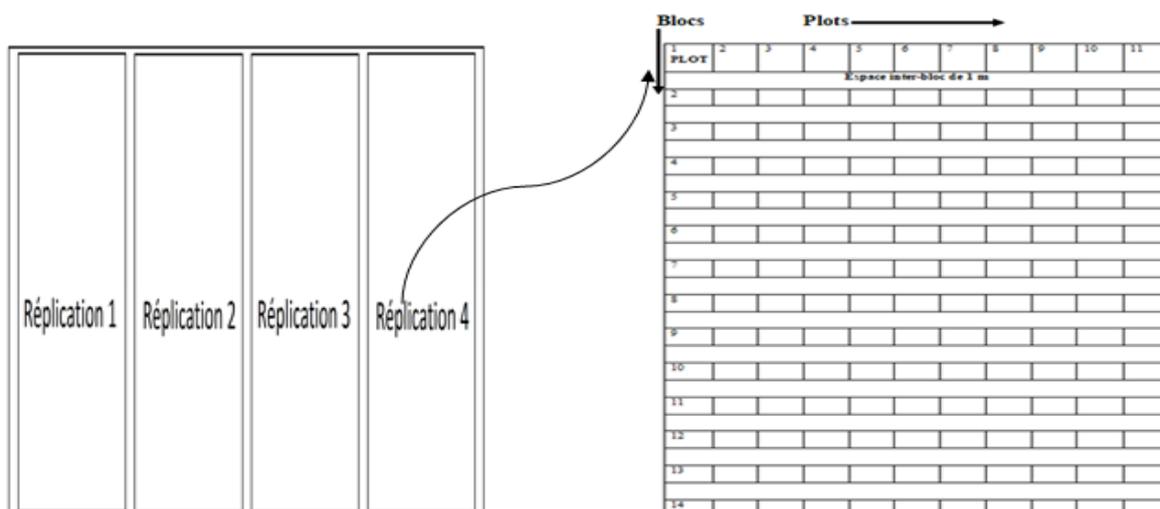


Figure 32 : Dispositif expérimental alpha-lattice

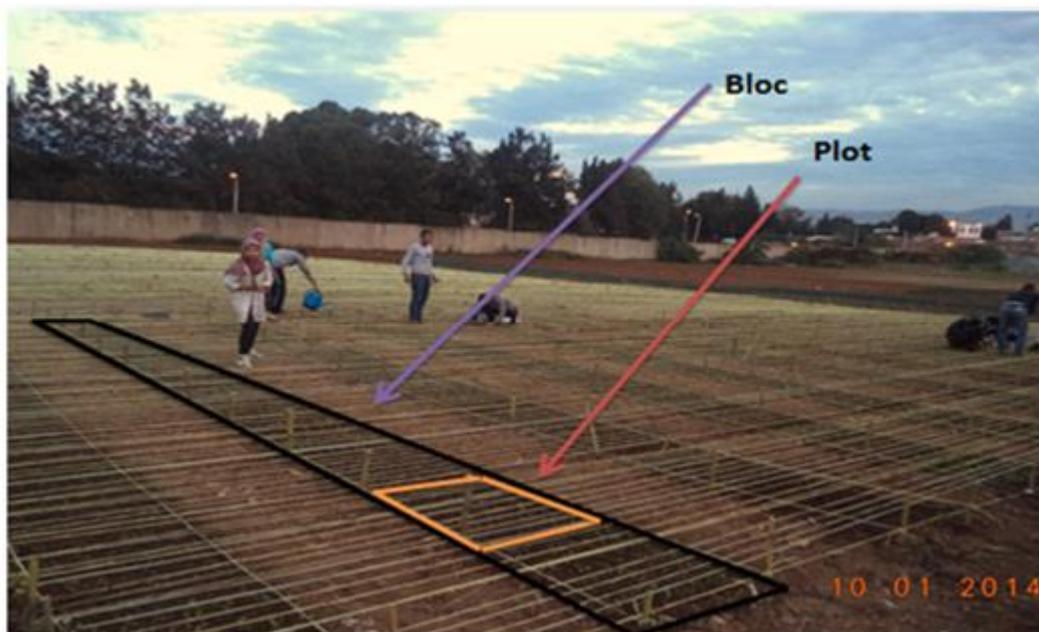


Figure 33 : Transplantation des plants de luzerne en plein champs suivant le dispositif alpha-lattice (Bentamra et Koribaa, 2014)

E. Entretien

A l'installation de l'essai, un traitement anti-limace a été appliqué ; le Métaldéhyde granulé à une dose de 25 pastilles. Aussi, un insecticide à base de chlorpyrifos-éthyl a été utilisé à une dose de 175 ml/L, pour lutter contre les pucerons et les fourmis.

Des désherbages fréquents ont été faits manuellement tout le long de la conduite de l'essai, surtout en mi- hiver et début de printemps où la parcelle été très infestée par des adventices comme : *Oxalis cernua*, *Leucanthemum vulgare*, *Chenopodium album*, *Sinapis arvensis*, *Convolvulus arvensis*, *Papaver rhoeas*.

2.4. Caractères notés

Pour tous les paramètres mesurés, les notations ne concernent que les plants du milieu du plot (initialement 42 plants/plot) et de ce fait ne prend pas en compte les plants des quatre bordures du plot (30 plants/plot à l'installation).

A. Le rendement total en matière sèche

Les coupes sont effectuées manuellement à l'aide d'une faucille à 10 cm du ras du sol, quand la majorité des plants atteignent une hauteur de plus de 35 cm pour l'ensemble des plots. La biomasse est par la suite mise dans l'étuve, pour se dessécher, à 80°C pendant 48h. A la sortie de l'étuve, la matière sèche est pesée avec une balance de précision 1000g. La matière sèche

est mesurée pour chaque plot, puis estimé en t/ha par (i) coupe (DMY), par (ii) année (DMY1, DMY2, et DMY3) et par (iii) 3 années (le rendement total TDMY).

B. Le nombre de plants vivants (PERSIST)

Ce paramètre est utilisé pour estimer la pérennité des génotypes, c'est un indicateur de la survie des plants, les notations de la persistance se font chaque campagne durant les 3 ans de suivi, au démarrage des plants en automne après dormance estivale et en fin de campagne à la dernière coupe en été (juillet), et donc le nombre de plants vivant égale à la différence entre les deux notations.

C. La hauteur végétative hivernale (WINHGT)

Ce paramètre est mesuré pour estimer le repos hivernal des génotypes, les mesures ont été prises à l'aide d'une règle graduée en cm, avant la coupe d'hiver (janvier ou février). Les mesures se font sur deux plantes extrêmes (la plus haute et la plus courte) pour chaque plot. La valeur finale est la moyenne de ces 2 mesures. Ce caractère est considéré comme un bon estimateur du rendement.

D. La floraison (FLOW)

La floraison est notée pour estimer la précocité ou la tardivité des génotypes, et ceci par le comptage du nombre de jours entre la date de la première fauche et la date à partir de laquelle 50 % des plants du plot ont fleuri.

2.5. Analyses statistiques

Les données de la première année n'ont pas été prises en considération car la première année est très variable et permet l'installation de la luzerne.

Par ailleurs, du fait qu'un quatrième block a été rajouté en deuxième année et que plusieurs irrigations d'appoint même de petites quantités ont été apportées en cette année il a été préféré de considérer des données de la troisième année jusqu'à la cinquième année (3 années sans la 2^e année d'essai). Cependant, dans le cadre du projet qui n'a duré que 3 années, la sélection a été réalisée par les chercheurs responsables de cette partie (Italie, Algérie, Maroc) sur 2 années de données incluant la 2^e année d'installation de la luzernière. Les résultats de sélection obtenus de 2 années (11 fauches) et de 3 années (17 fauches) ont été comparés.

Pour les 3 années, une analyse de la variance (ANOVA) a un seul critère a été réalisée, sur l'ensemble des répétitions par année et pour le cumul des années, à l'aide du logiciel PBTtools (Plant Breeding Tools-Version: 1.3). De plus des corrélations de Pearson entre caractères étudiés a été réalisée à l'aide du package 'corrplot' du logiciel R.

Pour la sélection il a été réalisé une comparaison de moyennes de cumuls des rendements en matière sèche et de la persistance des 151 descendants, où 18 à 15 familles ont été choisies comme les plus performants sous les conditions pluviales d'Alger respectivement pour 3 années sans la 2^e année d'essai et 3 années avec la 2^e année d'essais.

2.6. Bouturage

A. Objectif de bouturage

L'intérêt du bouturage est de pouvoir cloner les meilleurs descendants les plus productifs en matière sèche en mode pluvial, puis transplanter ces clones en plein champs pour récolter leur semence qui constituera la semence synthétique Syn 1. Pour la luzerne le bouturage a été réalisé le 29 mai 2018

Notre protocole de bouturage a été conçu à partir du « Protocole bouturage en 2006: PERMED-WP2, « Note technique sur le bouturage de la luzerne (*Medicago sativa* L.), de Sandrine Bouchier-Cambaud et François Lelièvre (INRA France) » (non publier), puis une adaptation a été faite selon les moyens disponibles.

B. Protocole de bouturage

Le bouturage sera d'autant plus efficace que la plante mère est vigoureuse et les tiges fortes. Le meilleur taux de réussite est au printemps et en début d'été (plantes en forte croissance, à la floraison initiée). L'opération de bouturage est effectuée à l'ombre, en conditions fraîches tôt le matin. Les étapes suivies sont (Figure 34) :

Obtention de boutures

- Prendre un plant vigoureux avec des tiges de 2-3 mm de diamètre, de hauteur de plus de 40 cm au stade plein floraison.
- Les tiges sont immédiatement tronçonnées en bouture en utilisant des ciseaux très tranchants. Une bouture est un fragment de tige de 5 cm de longueur comportant un entrenœud 1 cm au-dessus de la base, et 4 cm de tige au-dessus de l'entrenœud. Le nœud porte une feuille adulte, il a un bourgeon axillaire qui a déjà commencé son élongation pour former une jeune ramification de 0,5 à 4 cm, ce genre de boutures sont les plus favorables au bouturage.

Préparation du substrat

- Dans des bassines de 5 litres où on a mis une couche de gravier au fond de la bassine et on rajoute une couche du terreau (2/3) et une couche supérieure du sable fin (1/3). Le sable a l'avantage de laisser l'eau libre pour la plante et de permettre une excellente mouillabilité des boutures et du sol.

Mise en substrat des boutures

- Après préparation, les boutures sont directement mises dans le substrat. Elles sont plantées à environ 1 cm de profondeur, pour que le nœud soit légèrement enfoncé dans le sable (2 à 5 mm), de cette façon, la ramification se fera juste au niveau du sol.
- Le développement de racines (rhizogenèse) s'effectuant à la section inférieure de la bouture, la partie entre cette base et le nœud va devenir la zone de connections entre partie aérienne et souterraine (futur collet).
- Chaque bassine comporte 35 boutures réparties sur 5 lignes (interlignes de 5 cm) en plantant 7 boutures par ligne espacées de 2-3cm.

Conditions d'entretien

- Les bassines sont placées sous serre en verre, une ambiance fraîche et est maintenue durant les deux mois qui suivent le bouturage. Des irrigations de 2 à 4 fois/jour en mode submersion et aspersion en gouttelettes fines sont apportées.
- Application de traitements préventifs en 3 fois durant les premiers mois d'installation des boutures. Tous les 20 jours un fongicide « Amistar Top » à une dose de 1,08 ml/l d'eau, contre « Anthracnose, Oïdium et Mildiou », ainsi qu'un insecticide « Pychlorex » à une dose de 1,75 ml/l d'eau, contre les pucerons, ont été apportés en utilisant un vaporisateur manuel.

2.7. Mise en place de l'essai de production de semence synthétique Syn1

Après que les plants bouturés se sont bien développés ; un nombre égal de plants (8 plants) de chaque génotype sélectionné a été transplanté en plein champ de manière complètement randomisée. A partir du nombre de génotypes sélectionnés 120 plants au total ont été transplanté sur une superficie de 2,8 x 2,4 m. La distance entre les plants est de 20 cm. Une quantité de 0,26 kg d'engrais NPK (15*15*15) a été apporté une semaine après la transplantation. L'essai a été maintenu pendant tout le cycle du développement de la luzerne en isolement de toute source de pollen de luzerne.



Préparation de boutures et plantation dans mélange terreau et sable fin



Irrigation par submersion, nouvelles feuilles et enracinement après 2-3 semaines



Floraison, plant à hauteur de 25-35 cm, après 7 semaines

Figure 34: Protocole de bouturage de luzerne.

III. Résultats et discussion

3.1. Analyse de variance

3.1.1. Rendement en matière sèche

Le rendement total en matière sèche (TDMY) des 3 années (2015-2016 ; 2016-2017 ; 2017-2018) est de $18,79 \pm 2,69$ t/ha. Les rendements annuels moyens des 3 saisons consécutives (DMY1, DMY 2 et DMY3) sont respectivement : $10,50 \pm 1,60$ t/ha, $5,39 \pm 1,12$ t/ha, et $2,88 \pm 0,74$ t/ha ; avec l'apport de 55,88% de la première année, 28,68% de la deuxième année et 15,32% de la dernière année (Tableau 25).

Les descendants demi-frères sont différents pour le rendement en matière sèche de la première année (DMY1) et le rendement en matière sèche des 3 saisons (TDMY), à un seuil de

$P < 0,001$. La différence est significative à un seuil de $P < 0,05$ pour le rendement en matière sèche de la 3^{ème} année (DMY3), tandis qu'aucune différence significative n'est notée pour le rendement en matière sèche de la 2^{ème} année (DMY2) (Tableau 25). Les détails de ces résultats sont en Annexes 6-9.

Tableau 25 : Récapitulatif des résultats de l'analyse de la variance

Variable	DDL	Minimum	Maximum	Moyenne± Erreur standard	Déviaton standard	P > F
DMY1	153	1,91	15,05	10,50±1,60	3,64	0,0000***
DMY2	153	2,94	8,44	5,39±1,12	2,53	0,08 ^{ns}
DMY3	153	1,04	5,37	2,88±0,74	1,83	0,05*
TDMY	153	6,70	27,20	18,79±2,69	3,33	0,00000***
WINHGT1	153	33,86	54,35	45,59±4,57	9,191	0,0002***
WINHGT2	153	20,26	42,25	33,07±4,54	9,471	0,2042 ^{ns}
WINHGT3	153	24,01	43,58	33,55±3,67	7,81	0,63 ^{ns}
WINHGT	153	28,015	43,35	37,41±2,58	2,90	0,0086**
FLOW1	153	127,91	135,09	132,05±2,17	4,01	0,0005***
FLOW2	153	132,14	136,55	134,48±2,37	4,28	0,0072**
FLOW 1-2	153	103,02	140,00	133,0 ±2,89	5,66	0,009**
FLOW3	153	141,88	157,33	149,10±3,11	7,06	0,2708 ^{ns}
TFLOW	153	108,04	146,56	134,57±6,80	14,74	0,0791 ^{ns}
PERSIST	153	4,20	31,96	16,32±7,17	14,03	0,77 ^{ns}

ns= Non significatif; * Significatif à $P < 0,05$; ** Significatif $P < 0,01$; *** Significatif $P < 0,001$

Les mêmes génotypes étudiés en Italie, ont montré une différence significative pour le rendement total en matière sèche durant la première année ($P < 0,001$), avec des valeurs variant de 6,4 à 8,8 t / ha (Annicchiarico *et al.*, 2015).

Le rendement moyen en matière sèche des trois saisons pour 16 cultivars de luzerne, conduits en sec à la station ENSA (Alger), était de 20,07 t/ha avec 9 coupes, et l'apport moyen de la 3^{ème} année par rapport au rendement total était de 44% (Annicchiarico *et al.*, 2011).

Selon, Small (2010), la productivité en biomasse de la luzerne peut atteindre des rendements record de l'ordre de 22 tonnes de matière sèche par hectare sans irrigation.

Nos résultats sont en concordance avec ceux de Khelifi *et al.* (2008) qui ont étudié les rendements de 16 génotypes à la station expérimentale d'ENSA d'Alger, où ils ont obtenu, en pluvial et en 2^{ème} année d'essai, quatre coupes pour la luzerne avec des rendements en matière sèche allant de 4,79 à 11,64 t/ha.

3.1.2. Hauteur végétative hivernale

La hauteur hivernale moyenne des génotypes durant la 1^{ère} année est de $45,59 \pm 4,57$ cm, tandis qu'elle est de $33,07 \pm 4,54$ cm et $33,55 \pm 3,67$ cm, respectivement pour la 2^{ème} et 3^{ème} année, avec une moyenne des 3 années de $37,41 \pm 2,58$ cm (Tableau 25).

Les descendants demi-frères sont significativement différents pour la hauteur hivernale de la 1^{ère} année (WINHGT1) et la différence est significative à un seuil de $P < 0,01$ pour la hauteur hivernale moyenne des 3 années (Tableau 25). Cependant, aucune différence significative entre les génotypes n'est notée pour la hauteur hivernale de la 2^{ème} et 3^{ème} année (WINHGT2 et WINHGT 3). Les détails de ces résultats sont en Annexes 11-14.

Nous avons réalisé deux coupes en hiver entre décembre et février malgré l'enregistrement des températures les plus basses dans cette période. Ceci confirme le fait que les populations méditerranéennes ne présentent pas une dormance hivernale et produisent une grande proportion de rendement pendant cette période (Julier *et al.*, 1995). Alors, la mesure de la hauteur végétative hivernale a permis de visualiser cette absence de dormance. En fait, Ventroni *et al.* (2010), a démontré dans son étude que la hauteur des pousses de luzerne a été la composante du rendement qui a eu le plus d'impact sur le rendement du fourrage.

3.1.3. La floraison

Les génotypes étudiés ont fleuri en moyenne après $132,05 \pm 2,17$ jours durant la 1^{ère} année ; $134,48 \pm 2,37$ jours durant la 2^{ème} année ; et $149,10 \pm 3,11$ jours durant la 3^{ème} année. La moyenne annuelle de la floraison est de $134,57 \pm 6,80$ jours (Tableau 25).

La différence entre les génotypes est significative pour la floraison (FLOW1) de la première année ($P < 0,001$), ainsi que pour la floraison (FLOW2) de la deuxième année ($P < 0,05$), et pour la moyenne de floraison des deux années 1 et 2 ($P < 0,01$). Alors qu'aucune différence significative entre les génotypes n'a été notée pour la floraison de la 2^{ème} année (FLOW2) et pour la floraison moyenne des 3 années (FLOW1) (Tableau 25).

La floraison était toujours un critère de sélection et lorsqu'il s'agit de la sécheresse, la précocité est un facteur très important qui permet aux variétés qui sont précoces d'éviter la période de manque d'eau.

En effet, 18 génotypes sont supérieurs au parent le plus tardif « Mamuntanas » qui fleuri après 140,51 jours. Tandis que, 8 génotypes sont inférieurs au parent le plus précoce « Sardi 10 » qui fleuri après seulement 123,23 jours (Annexe 15-19).

3.1.4. La persistance

Le nombre moyen de plants par plot pour les génotypes étudiés est de $16,32 \pm 7,17$ plants. Aucune différence significative entre les génotypes n'a été notée pour ce caractère (PERSIST) (Tableau 25).

Selon Mauriès (1994), le rendement est en fonction du nombre de plantes par unité de surface, du nombre de pousses par plante et du poids respectif de ces différentes pousses. L'aptitude à la repousse et la vitesse de croissance de la luzerne sont directement dépendantes de ces réserves contenues dans le pivot qui assurent aussi sa pérennité.

Le nombre de génotypes qui ont un nombre moyen de plants supérieur au meilleur parent (Mamuntanas : 20,55 plants) est de 25 (Annexe 10).

3.2. Corrélation

Les résultats de l'analyse de corrélation entre les caractères considérés dans cette étude sont présentés dans la Figure 36. De fortes corrélations positives ont été obtenues entre les rendements en matière sèche des différentes années (TDMY1, TDMY2 et TDMY3), et des corrélations positives entre le rendement en matière sèche et la hauteur végétative hivernale ont été notées. Cependant, aucune corrélation n'a été trouvée entre la hauteur végétative hivernale et la floraison.

Des corrélations positives ont été obtenues entre le poids sec et la hauteur de la plante pour des populations de luzerne (Liu *et al.*, 2019).

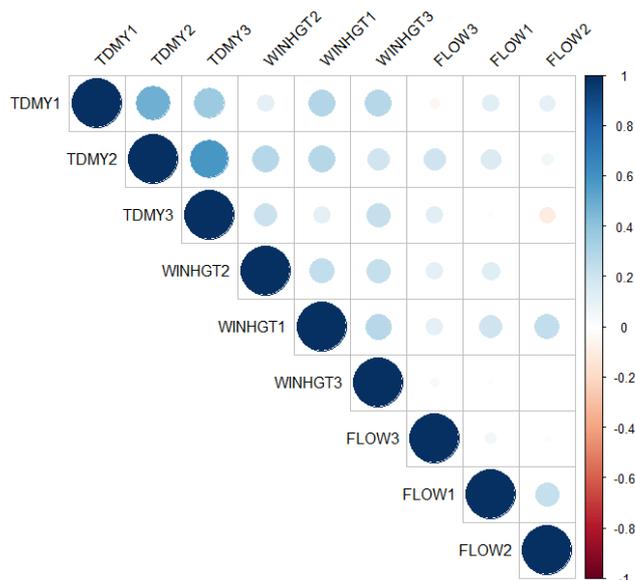


Figure 35 : Corrélation de Pearson des caractères significatifs

3.3. Sélection

3.3.1. Choix des meilleurs génotypes

La sélection des génotypes les plus performants a été faite sur deux quantités de données : (i) la première sur 11 coupes (2 années) à partir de la deuxième année; et (ii) la deuxième sur 17 coupes (3 années) à partir de la troisième année (Tableau 24 et 26). Les résultats de l'analyse de ces données (rendement total en matière sèche en Annexe 6 et la persistance en Annexe 10) ont donné respectivement pour les deux analyses ; 15 et 18 génotypes élites (Tableau 26).

La première sélection qui a porté sur l'analyse des données de 2 ans réalisé par les chercheurs du projet ARIMNet-REFORMA (Annichiarico P., Luciano P., Laouar M., et Abdelaziz Bouizgaren A.) a permis de définir 15 meilleurs génotypes élites à partir des quels la production de semence synthétique Syn1 a été réalisée et qui sont : 8, 15, 26, 31, 32, 34, 40, 43, 50, 53, 55, 59, 73, 85, et 126 (Tableau 26). Ce choix a été réalisé à partir de deux caractères qui sont : le rendement en matière sèche total et la persistance finale. Les génotypes élites sont supérieurs à la moyenne générale + 1 déviation standard pour le rendement et + 0,5 déviation standard pour la persistance (Rapport final du projet ARIMNet-REFORMA, 2017).

La deuxième analyse (3 années) a permis la sélection des 18 génotypes les plus performants en production de matière sèche et en persistance (Tableaux 24 et 26). Les résultats de

l'analyse de ces données se trouvent en Annexe 6 et 10). Sur la base du rendement accumulé en matière sèche et de la persistance finale, ces génotypes ont été identifiés comme les plus performants sous les conditions pluviales d'Alger (déficit hydrique modéré). En effet, pour être sélectionné, un descendant devait satisfaire à la fois deux conditions : un rendement matière sèche supérieur au rendement moyen de l'essai qui est de 19,79 q/ha (18,79 q/ha+1), et la persistance finale supérieure à la persistance moyenne de l'essai qui est de 16,82 (16,32+0,5) plants vivants (Tableau 26).

En comparant les résultats de sélection des deux analyses, il apparaît que 6 génotypes sont communs (Tableau 26, fond gris). Donc, la durée d'exploitation des données pour la sélection de la luzerne a un effet sur la sélection.

Par ailleurs, 2 et 3 génotypes sélectionnés à Alger sont similaires respectivement à ceux sélectionnés au site du Lodi (Italie, déficit sévère) et de Marrakech (sous irrigation suspendue en été) (Tableau 26).

Tableau 26 : Comparaisons entre les différents génotypes sélectionnés en Italie (Lodi), au Maroc (Marrakech) et en Algérie (Alger), selon leur performance en rendement cumulé en matière sèche et en persistance

Italie (Lodi) N° génotype (déficit hydrique sévere induit)	Maroc N° génotype (irrigation suspendue en été)	Algérie (Alger)	
		N° génotype (15) (2 années, déficit hydrique modéré)	N° génotype (18) (3 années, déficit hydrique modéré)
4	2	8	1
7	3	15	5
43	12	26	8
47	13	31	11
52	31	32	15
53	39	34	29
71	44	40	40
74	46	43	43
92	73	50	73
94	81	53	77
114	89	55	85
131	121	59	99
134	122	73	100
137	141	85	102
147	143	126	128
			132
			141
			143

Rouge : génotypes communs entre Alger et de Lodi ; Vert : génotypes communs entre Alger et Maroc ; fond gris : génotypes communs entre ceux obtenus par analyse de 2 années et ceux de 3 années d'expérimentation

Parmi les génotypes sélectionnés à Alger, 9 génotypes (1, 102, 128, 143, 15, 29, 43, 8, 85) ont un rendement total en matière sèche supérieur au meilleur parent « Mamuntanas » qui a produit 22,71 t/ha (Tableau 26 et Annexe 6).

3.3.2. Production de semence de la variété synthétique 1

Le bouturage des 15 génotypes après 2 semaines avait atteint en moyenne 68% de reprise pour l'ensemble de boutures.

Avant la transplantation en plein champs 10 fauches ont été réalisées pour maintenir dans les bassines les plants bouturés vivant et robuste jusqu'à la période automnale. Dix coupes ont été réalisées avant que les plants soient transplantés en plein champ.

En plein champ la reprise a été totale (100%), donc les 120 plants transplantés en plein champ se sont développés (Figure 36). En effet, il fallait assurer le nombre égal de plants pour chaque génotype. L'essai a été laissé en fécondation libre ; d'où il a été observé plusieurs insectes pollinisateurs autour. Les gousses mures qui contiennent la semence (Syn 1) sont récoltées en juillet, avec un rendement de 365,5g de gousses.



Figure 36 : Plants de luzerne transplantés à gauche, et leur reprise et floraison à droite (Morso, 2019).

IV. Conclusion et perspectives

Une semence synthétique de première génération « Syn 1 », a été produite à partir des 15 descendants les plus productifs et les plus persistants, et le travail continue pour produire les générations suivantes à savoir la semence synthétique « Syn 2 » puis la semence synthétique « Syn 3 » qui sera considérée comme la variété commerciale. Puis, les prochaines étapes prévues mèneront à l'homologation d'une nouvelle variété de luzerne avec ces trois

caractéristiques : tolérante à la sécheresse, non dormante, et à rendement fourrager élevé sous condition pluviale.

Des différences significatives entre les génotypes étudiés ont été notées pour le rendement total en matière sèche ($P < 0,001$), et pour la hauteur hivernale moyenne ($P < 0,01$)

Nos résultats montrent qu'avec les irrégularités de la pluviométrie, les génotypes étudiés s'adaptent bien et produisent annuellement en moyenne 6,26 t/ha. Le cumul du rendement en matière sèche des 3 années est de $18,79 \pm 2,69$ t/ha.

Le nombre moyen de plants par plot pour les génotypes étudiés est de $16,32 \pm 7,17$ plants, ils fleurissent en moyenne après $134,57 \pm 6,80$ jours et ont une hauteur hivernale moyenne de $37,41 \pm 2,58$ cm. Cependant, aucune différence significative entre les génotypes n'a été notée pour la floraison et pour la persistance.

Durant notre expérimentation, et sous les conditions pluviales, les coupes sont réalisées de décembre à juillet ce qui montre que la luzerne a la possibilité de couvrir une grande période en affouragement de l'année dans le calendrier fourrager. De plus, malgré les irrégularités et le manque de pluies pour certaines années, tous les génotypes testés persistent, ce qui montre les aptitudes de la luzerne pérenne à supporter des environnements moins favorables et le rôle que peut jouer dans la sécurisation de nos systèmes d'élevage de plus en plus fragilisés par le déficit fourrager.

Plusieurs génotypes se sont avérés meilleurs que le meilleur des parents. Cependant, pour permettre l'utilisation de ces génotypes pour d'autres environnements (nord de l'Algérie) il serait intéressant de les tester dans plusieurs sites en Algérie (sub-humide et semi-aride) afin de confirmer ou pas leur supériorité sous conditions pluviales dans les régions à contrainte hydrique modérée à sévère.

La sélection de nouveaux cultivars valorisant l'eau et résistant à la salinité sera nécessaire pour les régions du sud.

Chapitre IV : Association Pangénomique (GWAS) de quelques caractères d'intérêts chez 151 génotypes obtenus par croisement entre trois cultivars

I. Introduction

Les programmes de sélection conventionnels de la luzerne sont généralement basés sur une sélection phénotypique simple, qui nécessite un long cycle de sélection et a une faible efficacité (Kang *et al.*, 2020).

L'approche de génotypage par séquençage (GBS) est une procédure techniquement simple, et à un faible coût, qui convient aux études de population, à la caractérisation du matériel génétique, à la sélection et à la cartographie de divers organismes. Elle est basée sur un séquençage de nouvelle génération (NGS) à haut débit de sous-ensembles génomiques ciblés par des enzymes de restriction (REs) (Elshire *et al.*, 2011).

Le « Genome Wide Association Studies » (GWAS) repose sur des méthodes statistiques pour rechercher des associations entre les polymorphismes génomiques comme les SNPs et la variation phénotypique au sein d'une population spécifique (Enoma *et al.*, 2022).

Menée à l'échelle du génome, GWAS permet la détection simultanée de plusieurs allèles au même locus, et facilite la sélection génomique des cultures (Enoma *et al.*, 2022). En effet, ces dernières années, les études GWAS ont été largement appliquées pour interpréter les relations entre les gènes et les caractères, car identifier les architectures génétiques qui régulent les caractères importants simples ou complexes, est crucial pour la sélection et le développement de la génomique végétale (Kausch *et al.*, 2019 ; Xiao *et al.*, 2022).

Le génotypage par séquençage (GBS) a permis et a facilité l'étude de la structure du génome, ainsi que les études d'association (GWAS) et la sélection génomique chez la luzerne (Blondon *et al.*, 1994), chose qui n'était pas réalisable par l'utilisation des systèmes de marqueurs génétiques traditionnels (Li & Brummer, 2012 ; Li *et al.*, 2014 ; Wang *et al.*, 2020). En effet, avant l'avènement du GBS, malgré son importance agronomique la luzerne qui est autotétraploïde, allogame, hautement hétérozygote et avec un génome d'environ 800-1000 Mbp n'a pas connu le même essor en génétique moléculaire et en génomique que les cultures autogames, annuelles et à petit génome. Néanmoins, cette méthode est susceptible d'être plus rentable que d'autres dans un proche avenir puisque le haut débit du séquençage est de plus en

plus performant et à moindre cout (Illumina GoldenGate SNP arrays) (<http://www.illumina.com>) (Li & Brummer, 2012).

Nous émettons dans ce chapitre l'hypothèse que nous pouvons associer le rendement en matière sèche (DMY), la hauteur hivernale (WINHGT) et la floraison (FLOW) à plusieurs marqueurs SNP spécifiques générés par GBS qui pourraient être exploités pour la sélection génomique assistée (GAS).

L'objectif de cette expérience étant de tester l'hypothèse citée ci-dessus à partir (i) de données de phénotypage (caractères agronomiques) d'une population de référence (154 génotypes) de luzerne cultivée dans un environnement Méditerranéen et sous conditions pluviales et (ii) celles de son génotypage (séquençage) à partir de marqueurs SNP répartis sur l'ensemble du génome.

II. Matériel et méthodes

1. Phénotypage

Le phénotypage a été réalisé sur la population de 151 génotypes (descendance de demi-frère) et sur trois variétés parentales (Mamuntanas, Sardi 10 et Erfoud 1). Toutes les données concernant l'origine de ce matériel se trouve en partie matériel et méthode du chapitre III (page 80). Ce phénotypage avait porté sur la durée de trois campagnes agricoles, de décembre 2015 à juillet 2018.

Nous avons choisi les caractères qui se sont avérés significatifs statistiquement dans le chapitre III (page 84), à savoir, le rendement en matière sèche (TDMY : $18,79 \pm 2,69$ q/ha, $P < 0,001$), la hauteur hivernale (WINHGT : $37,41 \pm 2,58$ cm, $P < 0,01$) et la floraison (FLOW1-2 : $133,0 \pm 2,89$, $P < 0,01$).

2. Génotypage par Séquençage (GBS)

Les 154 descendants demi-frères, ont été génotypés par GBS (en utilisant la méthode d'Illumina HiSeq, 2000) pour le rendement en matière sèche, la hauteur hivernale et la floraison.

Le GBS de la luzerne a été réalisé par les équipes de recherche de CREA (Lodi, Italie), en collaboration avec Samuel Roberts Noble Foundation (SRNF) à Ardrmore (États-Unis) (Annicchiarico *et al.*, 2015).

2.1. Protocole du GBS

L'extraction de l'ADN et la construction de banques a été faite au CREA suivant cette procédure (Annicchiarico *et al.*, 2015) : L'ADN a été isolé à partir de tissus de feuilles fraîches par le kit de purification d'ADN génomique Wizard® (Promega, A1125) et quantifié avec un kit de dosage Quant-iT PicoGreen dsDNA (Life Technologies, P7589). Une banque a été construite, en utilisant le protocole de Elshire *et al.*, (2011) avec des modifications. En effet, 100 ng de chaque ADN a été digéré avec ApeKI (NEB, R0643L) et ensuite ligaturé à un adaptateur à code-barres unique et un adaptateur commun. Un volume égal du produit ligaturé a été rassemblé et nettoyé avec le kit de purification QIAquick PCR (QIAGEN, 28104) pour l'amplification par PCR. Dans la PCR, 50 ng d'ADN matrice ont été mélangés avec deux amorces (5 nmoles de chacune) et des Taq polymérase (NEB 2X Taq Master Mix NEB Cat # M0270S) dans un volume total de 50 µl, selon le protocole original (Elshire *et al.*, 2011). L'amplification a été réalisée dans un thermocycleur pendant 18 cycles avec 10 s de dénaturation à 98 ° C, suivi de 30 s d'hybridation à 65 ° C, et enfin d'extension de 30 s à 72°C.

La banque a été séquencée en deux voies par Illumina HiSeq 2000 à Genomic Sequencing and Analysis Facility (University of Texas at Austin, TX, USA). Le pipeline UNEAK (Universal NetworkEnabled Analysis Kit) a été utilisé pour la découverte de SNP.

Les lectures brutes (100 pb, lecture à une seule extrémité) obtenues à partir du séquenceur ont été d'abord filtrées et dé-multiplexées. Les données sont filtrées et implémentées par la méthode « Random Forest Imputation (RFI) » en utilisant le package «MissForest» de R. L'ensemble de données a été filtré pour des niveaux croissants de valeurs manquantes autorisées, de 10, 20, 30, 40, 50 et 70%.

Les étapes de construction d'une banque GBS sont illustrées dans la Figure 37 (Elshire *et al.*, 2011 ; Tagu *et al.*, 2018). En effet, cette procédure de construction de banques de GBS s'est basée sur le séquençage de nouvelle génération (NGS) à haut débit de sous-ensembles génomiques ciblés par des enzymes de restriction (REs) (Elshire *et al.*, 2011).

L'ADN génomique est extrait et digéré en utilisant une enzyme de restriction ApeKI (étape 1 sur la Figure 37). Des adaptateurs, avec et sans barcode, sont ligaturés aux extrémités des fragments d'ADN génomique (étape 2 sur la Figure 37). Des amorces appropriées avec des sites de liaison sur les adaptateurs ligaturés sont ajoutées et une PCR est effectuée pour augmenter le pool de fragments (étapes 3 et 4 sur la Figure 37). L'étape d'évaluation de la

taille des fragments est vérifiée sur un analyseur d'ADN (BioRad ExperionH), qui permet de contrôler le caractère complet de la digestion (étape 5 sur la Figure 37). Les banques sont séquencées, sur une ou plusieurs lignes de *flowcell* souvent par Illumina (étape 6 sur la Figure 37).

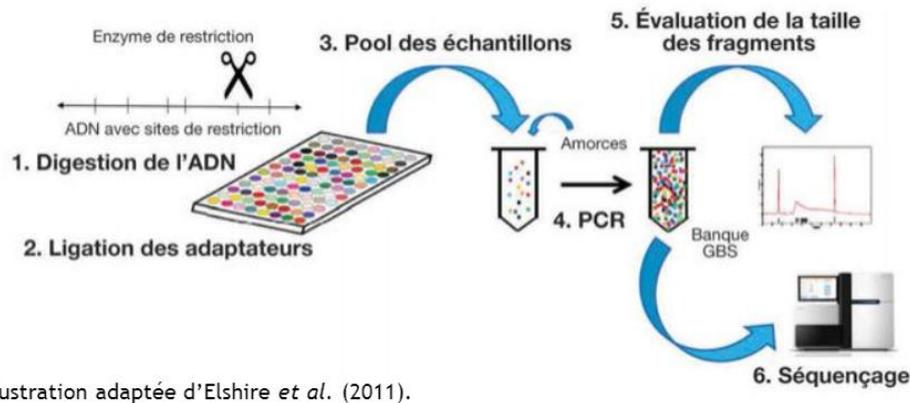


Figure 37 : Étapes de la construction d'une banque GBS (Elshire *et al.*, 2011, adaptée par Tagu *et al.*, 2018)

2.2. Alignement sur le génome de *Medicago truncatula*

L'alignement des lectures sur un génome de référence ; appelé «mapping», nécessite que les individus séquencés soient génétiquement proches du génome de référence (Tagu *et al.*, 2018), d'où le choix du génome de *M. truncatula*.

L'alignement sur *M. truncatula* a été fait au CREA¹, en choisissant les données à 30% de données manquantes. L'outil Bowtie 2 (Langmead & Salzberg, 2012) a été utilisé pour aligner la séquence consensus de chaque paire d'étiquettes contenant un SNP par rapport au génome de référence de *M. truncatula* version 4.1. Les SNP non alignés ont été placés dans un chromosome fictif (*) à des fins de visualisation (Annicchiarico *et al.*, 2015).

3. Analyses bioinformatiques

L'analyse GWAS repose sur la recherche de corrélations significatives entre la fréquence de certains allèles à un locus et le caractère phénotypique étudié sur un échantillon d'individus ;

¹ **Données supplémentaires** : Plus de détails sur l'ensemble de données génomiques utilisé dans cet article sont disponibles dans le référentiel SRA (Sequence Read Archive) du NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra/SRX1421601>)

donc pour chaque marqueur moléculaire SNP, l'association statistique entre les différents allèles et le caractère phénotypique étudié est mesurée. Le résultat de l'analyse GWAS est présenté sous forme d'un graphique appelé « Manhattan ».

Sur le graphique Manhattan : en abscisse, chaque point est un marqueur génétique (SNP) positionné sur les chromosomes en fonction de leur position physique (en nombre de bases) ; et l'association statistique de chaque marqueur génétique avec le caractère étudié est représentée en ordonnée. Les valeurs élevées indiquent une association statistique forte (Tagu *et al.*, 2018).

L'analyse des associations marqueurs (génotype)-caractère (phénotype) (GWAS) a été réalisée en utilisant le package « rrBLUP » du logiciel R, Version 3.5.1.

III. Résultats et Discussion

1. Nombre de SNPs

Le nombre total de SNPs polymorphes est élevé et il est égal à 77 610. Ce nombre ne tient pas en compte les données manquantes après l'application de filtrage de lecture approfondie (Annicchiarico *et al.*, 2015). Cependant, les seuils de plus en plus stricts des données manquantes ont entraîné une diminution progressive des SNPs disponibles pour la sélection génomique. Malgré la diminution, le nombre de SNPs est resté relativement élevé même à des seuils de données manquantes assez stricts.

Selon le niveau de données manquantes autorisé (10% à 50%), nous avons cinq données génotypiques : avec 10% nous avons 6597 SNPs, avec 20% nous avons 9269 SNPs, avec 30% nous avons 11450 SNPs, avec 40% nous avons 13515 SNPs et avec 50% nous avons 15819 SNPs (Figure 38). Il a été retenu 30% le niveau de données maquant ce qui correspondu à 11450 SNPs de marqueurs SNP.

En appliquant l'approche GWAS à des collections de génotypes de luzerne afin d'étudier les associations marqueur-caractères, 15 154 SNPs ont été identifiés par Sakiroglu & Brummer (2017), et 115 654 SNPs de haute qualité ont été identifiés par Wang *et al.* (2020).

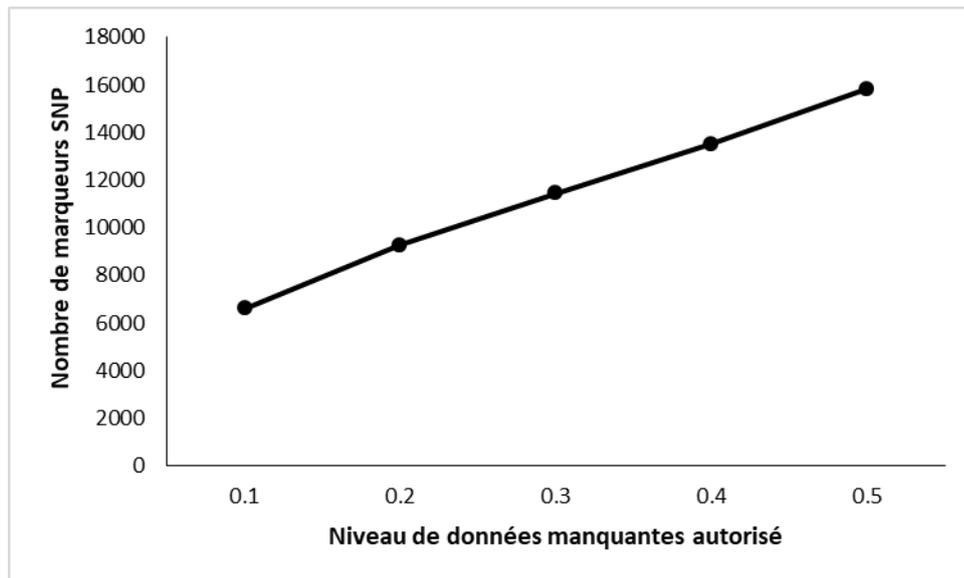


Figure 38 : Nombre de marqueurs SNP pour différents seuils de données manquantes de génotype pour les génotypes de luzerne étudiés.

2. Genome Wide Association Studies (GWAS)

Les graphiques de Manhattan pour le rendement en matière sèche, hauteur hivernale et floraison sont illustrés dans les Figures 39, 40, et 41. Sur ces graphiques, 8 chromosomes représentent les 8648 (75,5%) marqueurs alignés sur *M. truncatula* et un chromosome fictif appelé « * » pour les marqueurs non alignés (24,5% des SNPs). Le nombre de marqueurs alignés dans notre étude est nettement plus élevé que celui trouvé par Wang *et al.* (2020), où seulement 38,7% de marqueurs ont été cartographiés sur le génome de référence de *M. truncatula*, cela est peut-être dû à la grandeur de la collection étudiée et au nombre élevé de SNPs détectés par ces auteurs.

Dans ces graphiques, nous avons fixé un seuil de 3 pour sélectionner les scores d'associations significatifs.

Dans cette étude, le GWAS a identifié 19 SNPs associés aux 3 caractères étudiés, dont 4 associés au rendement en matière sèche, 6 associés à la hauteur hivernale et 9 associés à la floraison (Tableau 27). Wang *et al.* (2020), pour 9 caractères agronomiques dont la hauteur de la plante, rendement de la biomasse et la date de floraison, un total de 42 marqueurs significatifs (putative significant marker-trait associations MTAs) ont été détectées, d'où la puissance du GBS et du GWAS pour une caractérisation plus poussée des gènes candidats et pour aider la sélection de la luzerne. Un total de 53 SNPs significatifs associés à la tolérance au sel ont été identifiés et localisés à 49 locus à travers huit chromosomes, ce qui pourrait

aider à comprendre le mécanisme génétique par lequel le stress salin affecte la croissance et la production des plantes dans la luzerne (Liu *et al.*, 2019).

Tableau 27 : Numéro du chromosome, position et score d'association des marqueurs (SNPs) liés au rendement total en matière sèche, à la hauteur hivernale et début de la floraison en considérant le seuil de 3,0 comme score d'association significatif

Marqueur	Chromosome	Position (pb)	Caractère phénotypique	Score d'association -Log10 (P-value)
TP176405	chr1	5461476	Floraison	3,5054
TP187820	chr2	6773433	Floraison	3,2965
TP190063		13688674	Hauteur hivernale	3,0075
TP138145		9501387	Hauteur hivernale	3,0296
TP36514		42415289	Rendement en matière sèche	3,2132
TP102771	chr3	47604158	Floraison	3,6911
TP74974		50579749	Hauteur hivernale	3,3670
TP144231		51621610	Hauteur hivernale	3,0540
TP150535	chr5	10499013	Hauteur hivernale	3,0868
TP29192		30121875	Rendement en matière sèche	3,4161
TP95740		5574212	Rendement en matière sèche	3,1830
TP140605		24731188	Rendement en matière sèche	3,8052
TP29294		34107563	Hauteur hivernale	3,0159
TP156767	chr7	6734428	Floraison	4,2034
TP192624		32110538	Floraison	3,8252
TP195856		13250912	Floraison	3,2539
TP162200		36904791	Floraison	3,1317
TP191365	chr8	41171566	Floraison	3,7419
TP110919		432898881	Floraison	3,0671

Zhang *et al.* (2019) ont construit une carte de liaison à haute densité dans la luzerne, et ils ont identifié 5 QTLs pour le rendement (2 sur le chromosome 3 et 1 sur les chromosomes 2, 4, et 6) et 5 QTLs pour la hauteur de la plante (1 sur les chromosomes 1, 5, et 7, et 2 sur le chromosome 8).

Les bases génomiques de la floraison et du rendement de la luzerne restent mal comprises principalement en raison de la nature autopolyploïde de l'espèce et du manque de ressources génomiques adéquates (Adhikari *et al.*, 2019).

2.1. Rendement en matière sèche

Ainsi nous avons noté 4 marqueurs SNP associés au rendement en matière sèche : deux positionnés au chromosome 3 et 5, et deux au chromosome 7 (Figure 39). Sur le chromosome 3, le marqueur SNP est positionné à 42415289 pb, et le score d'association SNP-rendement en matière sèche est de 3,2132. Sur le chromosome 5, le marqueur SNP est positionné à 30121875 pb, et le score d'association SNP-rendement en matière sèche est de 3,4161. Sur le

chromosome 7, deux marqueurs SNPs ont été noté, l'un est positionné à 5574212 pb, et le score d'association SNP-rendement en matière sèche est de 3,1830, et l'autre est positionné à 24731188 pb, et le score d'association SNP-rendement en matière sèche est de 3,8052 (Tableau 27).

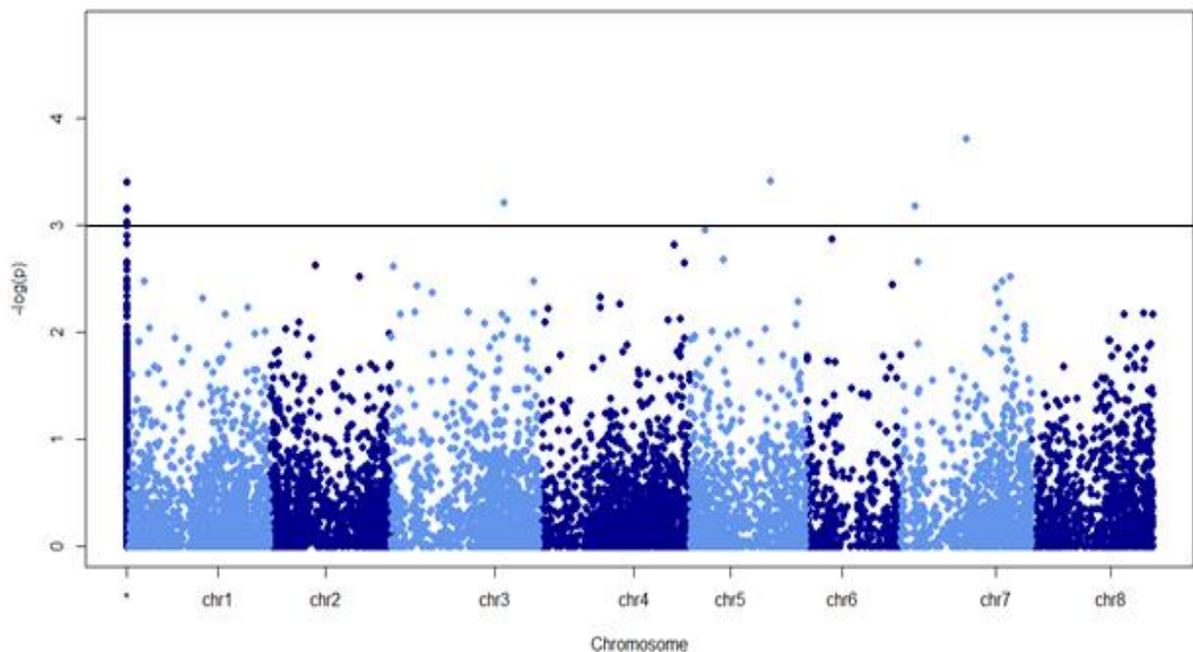


Figure 39 : Association de marqueurs SNPs alignés sur le génome de référence *M. truncatula* Mt4.0v1 avec le rendement en matière sèche, *: chromosome fictif groupant les SNPs non-alignés. Ligne noire (positionné à 3.0) indique le seuil minimum pour sélectionner un SNP significatif

Sur la même population étudiée et en utilisant les données d'une seule campagne agricole en Italie, Annicchiarico *et al.* (2015) ont trouvé 20 SNPs associés au rendement en matière sèche avec des scores modestes variant de 3 à 4. Ces SNPs se positionnent ainsi : 5 sur les chromosomes 1, 3 et 4, un seul sur les chromosomes 5 et 7, et 3 sur le chromosome 8. Dans notre étude seulement 4 SNPs associés au rendement en matière sèche ont été trouvés, cependant leurs positions et scores sont confirmés par les 20 détectés dans l'étude préalable.

Le GWAS a identifié 27 marqueurs de SNPs associés à la tolérance au sel, dont 6 sont significativement associés au rendement de la luzerne sous stress salin. Ces marqueurs étaient chr2_8865320, chr3_5484686 et 17906891, chr4_54035230, chr6_1909362, chr 8_32682521

(Medina *et al.*, 2020). Le SNP sur le chromosome 3 trouvé dans notre étude liée au rendement est positionné loin de ceux trouvés par Medina *et al.* (2020).

Trois SNPs associés au rendement en matière sèche de luzerne ont été identifiés, et portés sur les gènes suivant: le gène MTR_2g020280 sur le chromosome 2 avec un score d'association de 3,2 codant pour une protéine affectant la croissance des semis ; et les gènes MTR_4g060510 et MTR_4g106660 sur le chromosome 4 avec des scores respectives de 3,32 et 3,01, codant pour des protéines affectants la croissance cellulaire, la division cellulaire et le développement des plantes (Sakiroglu & Brummer, 2017). En effet, la position de ces SNPs sont totalement différents de ceux trouvés dans notre étude, par contre les scores d'associations sont proches.

Dans leur analyse de QTLs d'une population de luzerne, Adhikari *et al.* (2019), ont détecté 17 QTLs pour le rendement printanier dont 3 dans le chromosome 1 et 3, 1 dans le chromosome 4, 6 dans le chromosome 7, et 4 dans le chromosome 8.

2.2. Hauteur hivernale

Six marqueurs SNPs sont associés à la hauteur hivernale, mais à des scores modestes très proches du seuil 3 (Figure 40). Un seul SNP est positionné sur le chromosome 2 à 13688674 pb, avec un score de 3,0075. Trois SNPs sont positionnés sur le chromosome 3 respectivement à 9501387 pb (score=3,0296), 50579749 pb (score=3,3670), et 51621610 pb (score=3,0540). Un SNP est positionné sur le chromosome 5 à 10499013 pb avec un score de 3,0868. Le dernier SNP est positionné sur le chromosome 7 à 34107563 pb avec un score de 3,0159 (Tableau 27).

Dans leur étude d'association de la hauteur de plants de luzerne, Wang *et al.* (2020) ont trouvé un SNP significatif (rs12428), localisé dans un gène (MTR_2 g 105090) sur le chromosome 2. Le gène contenant le SNP code pour une protéine qui héberge un domaine ACT (Aspartate kinase, Chorismate mutase et TyrA) et partage une similarité de séquence protéique élevée avec le gène ACR11 *d'Arabidopsis thaliana*, et par conséquent, ce SNP pourrait représenter un locus important contrôlant la hauteur de la plante chez la luzerne.

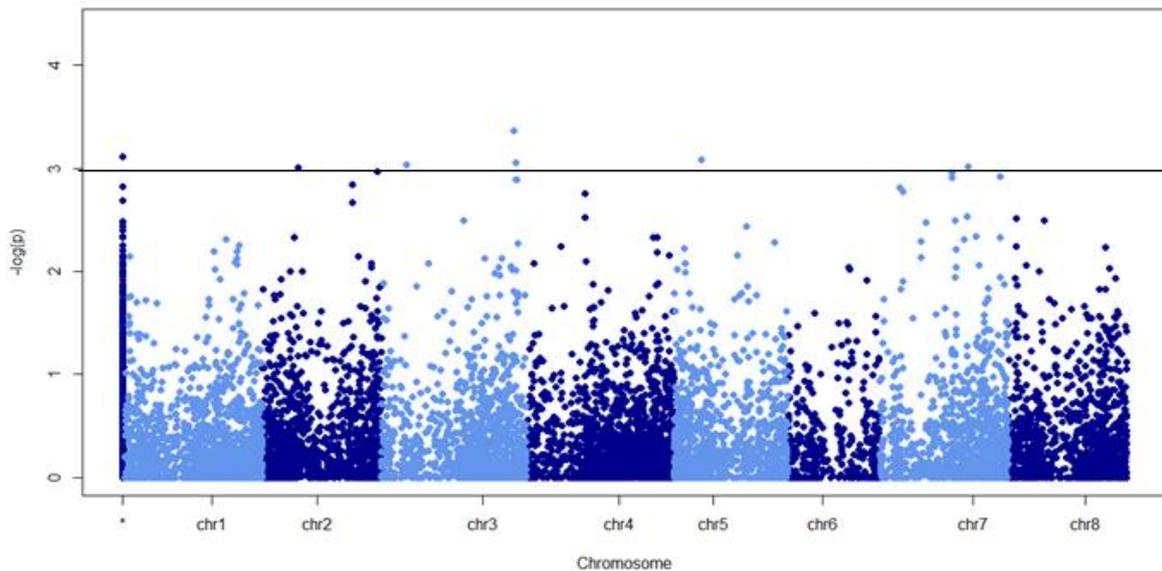


Figure 40 : Association de marqueurs SNPs alignés sur le génome de référence *M. truncatula* Mt4.0v1 avec la hauteur végétative hivernale, *: chromosome fictif groupant les SNPs non-alignés. Ligne noire (positionné à 3.0) indique le seuil minimum pour sélectionner un SNP significatif

2.3. Début de la floraison

Pour le début de la floraison, nous avons trouvé 9 marqueurs associés au seuil 3 : un sur les chromosomes 1, 2 et 3, deux au chromosome 7 et 4 au chromosome 8 (Figure 41).

Le SNP sur le chromosome 1 est positionné à 5461476 pb, avec un score d'association de 3,5054. Le SNP sur le chromosome 2 est positionné à 6773433 pb, avec un score d'association de 3,2965. Sur le chromosome 3, le SNP est positionné à 47604158 pb avec un score de 3,6911. Le chromosome 7 contient deux SNPs, positionnés respectivement à 6734428 avec un score relativement élevé de 4,2034 ; et à 32110538 pb avec un score de 3,8252. Enfin, 4 SNPs sont notés sur le chromosome 8, à des positions de 13250912 (score=3,2539), 36904791 pb (score=3,1317), 41171566 pb (score=3,7419), et 432898881 pb (score=3,0671) (Tableau 27).

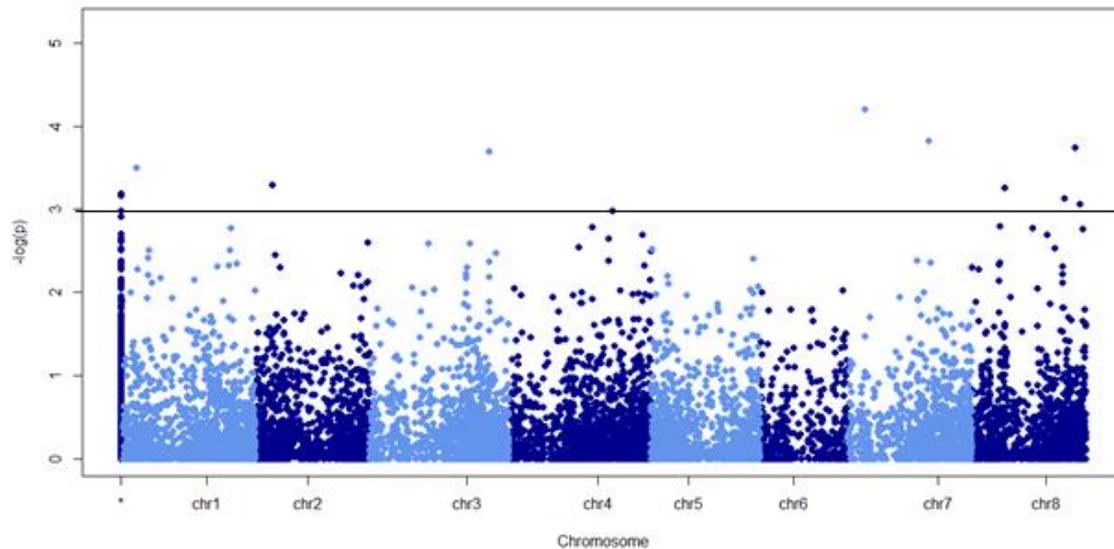


Figure 41 : Association de marqueurs SNPs alignés sur le génome de référence *M. truncatula* Mt4.0v1 avec la floraison, *: chromosome fictif groupant les SNPs non-alignés. Ligne noire (positionné à 3.0) indique le seuil minimum pour sélectionner un SNP significatif

Sur le même matériel génétique étudié, Biazzi *et al.* (2017) ont détecté plusieurs SNPs liés aux caractères qualitatifs qui se trouvent dans différents gènes, particulièrement pour la teneur en protéines de la tige. Par exemple, le SNP sur le chromosome 7 positionné à 6734442 pb, a été fortement associé à la teneur en protéine brute de la tige (score=7.22), est localisé sur le gène de résistance aux maladies de *M. truncatula* (Medtr7g021300). Ce SNP n'est pas loin de celui obtenu associé à la floraison (6734428 pb avec un score de 4,2034), car l'écart est seulement de 14 bases.

Dans une étude sur des populations de *Medicago truncatula*, sous stress hydrique, 49 QTLs ont été détectés sur tous les chromosomes sauf le chromosome 6, où un QTL majeur pour la date de floraison a été trouvé sur le chromosome 7 (Kadri *et al.* 2017). En outre, dans une autre étude d'analyse de QTLs, des cartes de liaison ont été construites pour la floraison dans une population F1 de luzerne, par conséquent, 24 QTLs ont été détectés pour ce caractère : 5 dans le chromosome 1, 3 dans le chromosome 3, 1 dans le chromosome 4, 5 dans le chromosome 6, 8 dans le chromosome 7, et 2 dans le chromosome 8 (Adhikari *et al.*, 2019). En effet, ces QTLs constituent des ressources génomiques précieuses pour améliorer ces caractères via la sélection assistée par marqueurs (MAS).

IV. Conclusion et Perspectives

Le GWAS a révélé 19 marqueurs SNPs associés aux trois caractères étudiés. La floraison est associée à 9 SNPs, la hauteur hivernale à 6 SNPs, et le rendement en matière sèche à 4 SNPs.

Nos résultats indiquent que la sélection génomique pour le rendement en matière sèche, et d'autres caractères de la luzerne est prometteuse. Les résultats de GWAS ont confirmé la complexité des caractères étudiés, mais ils peuvent contribuer à une meilleure conception des expériences de sélection génomique pour la luzerne et d'autres cultures avec des systèmes de reproduction similaires.

L'élaboration de la carte physique où les 19 marqueurs SNPs seront positionnés sur les 8 chromosomes de *M. truncatula*, et ceci à l'aide de la base de données de Phytozome (https://phytozome-next.jgi.doe.gov/info/Mtruncatula_Mt4_0v1), sera la prochaine étape de notre étude. Cette étape visera d'identifier des QTLs qui seront utiles pour la sélection assistée par marqueurs (MAS) dans la sélection de la luzerne.

L'utilisation des stratégies de sélection novatrices et peu coûteuse comme la sélection génomique basée sur des marqueurs SNPs, de génotypage par séquençage, apparaît comme les plus prometteuses, bien qu'il soit urgent d'évaluer leur efficacité (Annicchiarico, 2015 ; Annicchiarico *et al.*, 2019).

En Algérie, le problème d'accès et d'utilisation du séquençage à haut débit ainsi que la non maîtrise des bio-informatiques qui accompagnent tout le processus de la sélection génomique est un frein considérable pour l'application de ces savoirs dans les pratiques de sélection (Laouar, 2022 communication orale). Des méthodes et des modèles sont entrain d'être valider et vont passer à l'étape de développement risque d'être non utiliser malgré leur grande efficacité pour l'Algérie et cela juste par ignorance des besoins fondamentales nécessaires à leur développement (Laouar, 2022 communication orale).

Conclusion générale et perspectives

La sélection doit viser les variétés de luzerne ayant les meilleures opportunités de réussir dans la plupart des conditions agro-climatiques, sous les contraintes abiotiques et biotiques dominantes. Dans ce contexte, les deux projets PERMED-UE et REFORMA-ARIMNet, ont visé de sélectionner les meilleurs génotypes de luzerne en termes de production et de stabilité en conditions pluviales.

L'étude de l'interaction de 16 génotypes méditerranéens avec les 4 environnements définis comme la combinaison entre le site (Alger et Hmadna) et le régime hydrique (irrigué et sec) nous a permis de sélectionner le meilleur cultivar pour chaque environnement.

En effet, **Ameristand 801S, Ecotipo Sicilien et Erfoud 1 pourraient être suggérés à Hmadna** sous les deux régimes hydriques. **Mamuntanas, Sardi 10, Ecotipo Sicilien et ABT805 pourraient être proposés à Alger** (sous les deux régimes). Les génotypes les plus performants sont : Ameristand 802S, Mamuntanas et Ecotipo sicilien, tandis que, Tamantit, Africaine et Demnat 203, sont les moins performants.

Le cultivar italien Ecotipo Sicilien a donné un rendement acceptable et stable quel que soit le site et quel que soit le régime hydrique. L'Ecotipo Sicilien est le génotype idéal et le plus stable dans les environnements testés, alors que, Mamuntanas et Ameristand 802S sont des génotypes les moins stables avec des performances moyennes supérieures à la moyenne.

L'environnement d'Alger-pluvial est classé comme l'environnement idéal pour sélectionner les génotypes performants, qui sont par ordre décroissant : Mamuntanas, Sardi 10, Ecotipo Sicilien et Ameristand 801S.

En tenant compte de la variation des réponses observées, ci-dessus, dans cette étude et celles obtenues à partir d'autres environnements méditerranéens, **trois variétés très adaptées à la sécheresse et à la salinité ont été choisies et ont servi comme géniteur pour créer une population demi-frère (151 génotypes). Les 3 parents considérés élites sont Mamuntanas, Erfoud 1 et Sardi 10.**

Nos résultats montrent des différences significatives entre les génotypes (151 génotypes) étudiés pour le rendement total en matière sèche ($P < 0,001$), et pour la hauteur hivernale moyenne ($P < 0,01$).

Avec les irrégularités de la pluviométrie, les génotypes étudiés s'adaptent bien et produisent annuellement en moyenne 6,26 t/ha. Le cumul du rendement en matière sèche des 3 années est de $18,79 \pm 2,69$ t/ha. Le nombre moyen de plants par plot pour les génotypes étudiés est de $16,32 \pm 7,17$ plants, les génotypes ont fleuri en moyenne après $134,57 \pm 6,80$ jours et ont une hauteur hivernale moyenne de $37,41 \pm 2,58$ cm.

De plus, malgré les irrégularités et le manque de pluies pour certaines années, **tous les génotypes testés persistent**, ce qui montre les aptitudes de la luzerne pérenne à supporter des environnements moins favorables et le rôle que peut jouer dans la sécurisation de nos systèmes d'élevage de plus en plus fragilisés par le déficit fourrager.

Une semence synthétique de première génération « Syn 1 », a été produite à partir des 15 descendants (génotypes) sélectionnés à partir de la population demi-frère (151 génotypes) pour leur bonne productivité en matière sèche et pour leur persistance (viabilité) sous conditions pluviales. Cette variété « Syn 1 », a été introduite pour validation dans un projet PNR qui est en cours d'examen. Si le projet était accepté, la première variété de luzerne verrait le jour en Algérie et il y aurait la production de semence assuré par le partenaire privé AXIUM en collaboration avec le CNCC l'organisme étatique responsable de l'homologation et la production de semence en Algérie.

En outre, les résultats indiquent aussi que la sélection génomique pour le rendement en matière sèche, et d'autres caractères agronomique quantitatifs de la luzerne est prometteuse. En effet, les résultats de GWAS peuvent contribuer à une meilleure conception des expériences de sélection génomique pour la luzerne.

L'analyse GWAS a révélé 19 marqueurs SNPs associés aux trois caractères étudiés, dont 9 pour la floraison, 6 pour la hauteur hivernale, et 4 pour le rendement en matière sèche. La suite de ce travail visera l'annotation de ces marqueurs SNPs afin d'identifier des QTLs qui seront utiles pour la sélection assistée par marqueurs (MAS) de la luzerne.

Pour l'Algérie, la coopération internationale et surtout méditerranéenne dans le domaine de la recherche agronomique, dans notre cas la sélection de la luzerne pérenne, sera très utile pour développer et résoudre rapidement des problèmes communs. En effet, cela va nous permettre un gain de temps (agir rapidement en appliquant les résultats sur terrain) et de moyens. Dans le cadre des projets de collaboration, l'équipe du Pr. LAOUAR M. (ENSA) a pu bénéficier

des résultats de séquençage qui sont très important pour entendre la sélection génomique. De plus il y a eu le transfert de savoir des nouvelles méthodes de sélection.

La complexité génétique et de reproduction chez la luzerne fait que le développement de ces nouvelles méthodes de sélection est une nécessité importante si on souhaite vraiment rattraper le retard et développer cette culture dans les différentes régions en Algérie. Mais, la collaboration à elle seule ne pourra permettre d'atteindre notre objectif. **L'Algérie pourra profiter de l'avancée de la sélection génomique si seulement elle assure l'accès facile au service du séquençage à haut débit (moins couteux) et à la maîtrise des analyses bio-informatiques (formation et recrutement).** Des modèles statistiques seront bientôt validés pour la sélection génomique et il serait vraiment dommage que ne nous pourrions pas en profiter.

Cependant, pour élargir la sélection, le même type d'expérimentations devrait être répété dans plus de sites en Algérie, par exemple dans les zones semi-arides et où les sols sont plus affectés par la salinité. La population de progéniture de demi-frère est très diversifiée et pourra être considéré comme matériel de sélection disponible pour les instituts de développement.

Références bibliographiques

1. Abbas K. et Abdelguerfi A., 2005. Perspectives d'avenir de la jachère pâturée dans les zones céréalières semi-arides. *Fourrages*, n. 184, p.p. 533-546.
2. Abdelguerfi A., Laouar M. et M'Hammedi Bouzina M., 2008. Les productions fourragères et pastorales en Algérie : situation et possibilités d'amélioration. *Agriculture et Développement*, INRA, Alger, n. 6, p.p. 14-25.
3. Abbas, K., Mebarkia, A., & Mohguen, K. (2014). Performances of some fodder cultivars cultivated in pure stand or in association under semi-arid conditions of Algeria. *Options Méditerranéennes. Série A, Séminaires Méditerranéens*, (109), 105-109.
4. Abdelguerfi, A., & Laouar, M. (2002). Espèces fourragères et pastorales, leurs utilisations au Maghreb (Algérie, Maroc, Tunisie). Editions FAO, 136p.
5. Abdelguerfi A. & Laouar M. (2013). Les végétaux cultivés, L. E. I. Rapport de synthèse sur l'écosystème agricole, 99p.
6. Abdelguerfi, A., Laouar, M., M'hammedi-Bouzina, M. (2008). Les productions fourragères et pastorales en Algérie: Situation et possibilités d'amélioration. *Revue Agriculture et développement*, 6, 14-25.
7. Achir, C., Annicchiarico, P., Pecetti, L., Khelifi, H. E., M'Hammedi-Bouzina, M., Abdelguerfi, A., & Laouar, M. (2020). Adaptation patterns of sixteen alfalfa (*Medicago sativa* L.) cultivars across contrasting environments of Algeria and implications for the crop improvement. *Italian Journal of Agronomy*, 15(1), 57-62.
8. Adem, R., Ferrah, A. 2002. Les ressources fourragères en Algérie. Analyse du bilan fourrager pour l'année 2001.
[http://désertification.wordpress.com/2007/03/31/ressources fourragères en algérie.gredaal.com](http://désertification.wordpress.com/2007/03/31/ressources-fourragères-en-algérie.gredaal.com)
9. Acquaah, G. (2015). Conventional plant breeding principles and techniques. In *Advances in plant breeding strategies: breeding, biotechnology and molecular tools* (pp. 115-158). Springer, Cham.
10. ACTA, (1984). Fiche de l'Association de Coordination Technique Agricole. Fiche N° 402.
11. Adhikari, L., Makaju, S. O., & Missaoui, A. M. (2019). QTL mapping of flowering time and biomass yield in tetraploid alfalfa (*Medicago sativa* L.). *BMC plant biology*, 19(1), 1-15.

12. Ai-Ke, B., Zheng-Gang, G., Hong-Fei, Z., & Suo-Min, W. (2009). A procedure for assessing the salt tolerance of lucerne (*Medicago sativa* L.) cultivar seedlings by combining agronomic and physiological indicators. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 52(4), 435-442.
13. Aït-Abdallah-Djennadi F., Dekkiche N., Ghalem-Djender Z., Oumdjekane K., Zaghouane-Boufenar F. 2010. Cultures et coûts de production des grandes cultures. Institut technique des grandes cultures (ITGC), Alger, Algérie, 96p.
14. Amellal, R. (1995). La filière lait en Algérie: entre l'objectif de la sécurité. *Options Méditerranéennes: Série B. Etudes et Recherches*, (14), 229-238.
15. Alessandri A, De Felice M, Zeng N, Mariotti A, Pan Y, Cherchi A, Lee JY, Wang B, Ha KJ, Ruti P, Artale V, 2014. Robust assessment of the expansion and retreat of Mediterranean climate in the 21st century. *Scientific Reports*, 4, 7211.
16. Alqahtani, M. D. S., Roy, S. J., & Tester, M. A. (2018). Increasing salinity tolerance of crops. In R. A. Meyers (ed.), *Encyclopedia of Sustainability Science and Technology*, Springer Nature, https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2493-6_429-3.
17. Annicchiarico, P. (2002). Genotype × environment interactions: challenges and opportunities for plant breeding and cultivar recommendations. *Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) Plant Production and Protection*, Paper No. 174, Rome, Italy, 115p.
18. Annicchiarico, P. (2015). Alfalfa improvement in the Mediterranean Basin, *Legume Perspectives Issue 10 • October 2015*, p.p. 15-17. (60 p).
19. Annicchiarico, P. (2017). Feed legumes for truly sustainable crop-animal systems. *Italian Journal of Agronomy*, 12(2). <https://doi.org/10.4081/ija.2017.880>.
20. Annicchiarico P, Pecetti L, Abdelguerfi A, Bouizgaren A, Carroni AM, Hayek T, M'Hammadi-Bouzina M, Mezni M, 2011. Adaptation of landrace and variety germplasm and selection strategies for lucerne in the Mediterranean basin. *Field Crops Res* 120: 283-291.
21. Annicchiarico, P., Barrett, B., Brummer, E. C., Julier, B., & Marshall, A. H. (2015). Achievements and challenges in improving temperate perennial forage legumes. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 34(1-3), 327-380.
22. Annicchiarico, P., Nazzicari, N., Li, X., Wei, Y., Pecetti, L., & Brummer, E. C. (2015). Accuracy of genomic selection for alfalfa biomass yield in different reference populations. *BMC genomics*, 16(1), 1020.

23. Annicchiarico P, Pecetti L, Tava A, 2013. Physiological and morphological traits associated with adaptation of lucerne (*Medicago sativa*) to severely drought-stressed and to irrigated environments. *Ann Appl Biol* 162: 27-40.
24. Aomari O, 2011. Comportement de seize cultivars de luzerne pérenne (*Medicago sativa* L.) en essai pluvial et irrigué au niveau de la Mitidja. Thèse de Magister, Ecole Nationale Supérieure Agronomique (ENSA), Alger, Algérie.
25. Aranjuelo, I., Molero, G., Erice, G., Avice, J. C., & Nogués, S. (2011). Plant physiology and proteomics reveals the leaf response to drought in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Journal of experimental botany*, 62(1), 111-123.
26. Arshad, M., Feyissa, B. A., Amyot, L., Aung, B., & Hannoufa, A. (2017). MicroRNA156 improves drought stress tolerance in alfalfa (*Medicago sativa*) by silencing SPL13. *Plant science*, 258, 122-136.
27. Ballesta A, Lloveras, J, 2010. Nitrogen replacement value of alfalfa to corn and wheat under irrigated Mediterranean conditions. *Span J Agric Res* 8: 159-169.
28. Bao, A. K., Wang, S. M., Wu, G. Q., Xi, J. J., Zhang, J. L., & Wang, C. M. (2009). Overexpression of the Arabidopsis H⁺-PPase enhanced resistance to salt and drought stress in transgenic alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Plant Science*, 176(2), 232-240.
29. Barnes, D. K., Goplen, B. P., & Baylor, J. E. (1988). Highlights in the USA and Canada. *Alfalfa and alfalfa improvement*, (alfalfaandalfal), 1-24.
30. Barrios PG, Castro M, Pérez O, Vilaró D, Gutiérrez L, 2017. Genotype by environment interaction in sunflower (*Helianthus annuus* L.) to optimize trial network efficiency. *Span J Agric Res* 15: 19.
31. Belaid D. 2014. SYSTEMES FOURRAGERS EN ALGERIE, PRODUIRE MALGRE LE DEFICIT HYDRIQUE. Sur le site : <http://www.djamel-belaid.fr/fourrages/>, consulté le 25 novembre 2020.
32. Bellague D, M'Hammedi-Bouzina, M, Abdelguerfi A, 2016. Measuring the performance of perennial alfalfa with drought tolerance indices. *CHIL J AGR RES* 76: 273-284.
33. Benabderrahim MA, Haddad M, Hamza H, Ferchichi A, 2011. Germination and emergence variability of alfalfa (*Medicago sativa* L.) landraces collected in Southern Tunisia oases. *Span J Agric Res* 9: 135-143.
34. Benabderrahim MA, Hamza H, Mansour H, Ferchichi A, 2015a. A comparison of performance among exotic and local alfalfa (*Medicago sativa* L.) ecotypes under Tunisian conditions. *ROM AGRIC RES* 32: 43-51.

35. Benabderrahim MA, Hamza H, Haddad M, Ferchichi A, 2015b. Assessing the drought tolerance variability in Mediterranean alfalfa (*Medicago sativa* L.) genotypes under arid conditions. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology* 149: 395-403.
36. Bentamra D. et Koribaa I. (2014). Etude du comportement de 151 populations de luzerne pérenne (*Medicago sativa* L.) issues de croisements de variétés résistantes à la sécheresse ou à la salinité. Mém. Ing. ENSA, El Harrach, Alger, Algérie, 45p.
37. Bessaoud, O., Pellissier, J. P., Rolland, J. P., & Khechimi, W. (2019). Rapport de synthèse sur l'agriculture en Algérie. [Rapport de recherche] CIHEAM-IAMM, pp.82.
38. Biazzi, E., Nazzicari, N., Pecetti, L., Brummer, E. C., Palmonari, A., Tava, A., & Annicchiarico, P. (2017). Genome-wide association mapping and genomic selection for alfalfa (*Medicago sativa*) forage quality traits. *PLoS One*, 12(1), e0169234.
39. Blondon, F., Marie, D., Brown, S., & Kondorosi, A. (1994). Genome size and base composition in *Medicago sativa* and *M. truncatula* species. *Genome*, 37(2), 264-270.
40. Bouaboub-Mossab K, 2001. Comportement de variétés et populations de luzerne pérenne *Medicago sativa* L. Thèse de Magister, Institut National Agronomique (INA), Alger, Algérie.
41. Bouharmont, J. (1994). Création variétale et amélioration des plantes. *Agronomie moderne, bases physiologiques et agronomiques de la production végétale*, 312-518.
42. Bouizgaren A, Farissi M, Ghoulam C, Kallida R, Faghire M, Barakate M, Al Feddy MN. (2013). Assessment of summer drought tolerance variability in Mediterranean alfalfa (*Medicago sativa* L.) cultivars under Moroccan fields conditions. *Arch. Agron. Soil Sci* 59: 147-160.
43. Bouguerra, I. et Saker, F.Z. (2018). Etude du comportement de quelques populations locales de luzerne pérenne (*Medicago sativa* L.) sous contrainte saline (chambre de culture) et en plein champs dans la région de M'sila. Mémoire de master académique en production végétale. Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila, 107p.
44. Bouzaid Feriel Oumaima. (2020). Actualisation des données sur les ressources phytogénétiques et recensement de quelques savoirs traditionnels en Algérie. Thèse Master Ingénieur/ENSA, 151p.
45. Bouzida, S., Ghozlane, F., Allane, M., Yakhlef, H., & Abdelguerfi, A. (2010). Impact du chargement et de la diversification fourragère sur la production des vaches laitières dans la région de Tizi-Ouzou (Algérie). *Fourrages*, 204, 269-275.

46. Brancourt-Hulmel, M. (2000). SELECTION VARIETALE ET MILIEU Sélection pour l'adaptation au milieu et prise en compte des interactions génotype/milieu. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 7(6), 504-511.
47. Brummer, E. C., Moore, K. J., & Bjork, N. C. (2002). Agronomic consequences of dormant–nondormant alfalfa mixtures. *Agronomy Journal*, 94(4), 782-785.
48. Budak, F., & Kizil-Aydemir, S. (2018). GGE biplot analysis for yield and quality stability in two environment trials of alfalfa genotypes (*Medicago sativa* L.). *Fresenius Environmental Bulletin*, 27(11), 7668-7676.
49. Cabello, J. V., Giacomelli, J. I., Gómez, M. C., & Chan, R. L. (2017). The sunflower transcription factor HaHB11 confers tolerance to water deficit and salinity to transgenic *Arabidopsis* and alfalfa plants. *Journal of biotechnology*, 257, 35-46.
50. Castroluna, A., Ruiz, O. M., Quiroga, A. M., & Pedranzani, H. E. (2014). Effects of salinity and drought stress on germination, biomass and growth in three varieties of *Medicago sativa* L. *Avances en Investigación Agropecuaria*, 18(1), 39-50.
51. Chaabena, A., Abdelguerfi, A., & Baameur, M. (2004). Comportement et caractérisation de quelques variétés de luzerne (" *Medicago sativa*" L.) dans la région de Ouargla. *Cahiers Agricultures*, 13(3), 271-276.
52. Chaabena, A., Laouar, M., Guediri, O., Benmoussa, A., & Abdelguerfi, A. (2011). Quelques populations sahariennes de luzerne pérenne (*Medicago sativa* L.) face à un stress hydrique. *Revue des BioRessources*, 1(2), 36-48.
53. Chedjerat A, M'Hammedi-Bouzina M, Gacemi A, Abdelguerfi A, 2016. Forage yield components of various alfalfa (*Medicago sativa* L.) cultivars grown on salt-affected soil under rainfed and irrigated conditions in a Mediterranean environment. *AFR J AGR RES* 11: 3246-3253.
54. del Pozo A, Ovalle C, Espinoza S, Barahona V, Gerding M, Humphries A ,2017. Water relations and use-efficiency, plant survival and productivity of nine alfalfa (*Medicago sativa* L.) cultivars in dryland Mediterranean conditions. *Eur J Agron* 84: 16-22.
55. Dhakal, M., West, C. P., Villalobos, C., Sarturi, J. O., & Deb, S. K. (2020). Trade-off between nutritive value improvement and crop water use for an alfalfa–grass system. *Crop Science*, 60:1711–1723, DOI: 10.1002/csc2.20159.
56. Elshire, R. J., Glaubitz, J. C., Sun, Q., Poland, J. A., Kawamoto, K., Buckler, E. S., & Mitchell, S. E. (2011). A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. *PloS one*, 6(5), e19379.

57. Enoma, D. O., Bishung, J., Abiodun, T., Ogunlana, O., & Osamor, V. C. (2022). Machine learning approaches to genome-wide association studies. *Journal of King Saud University-Science*, 101847.
58. Eskridge K M., 1990. Sélection of stable cultivars using a safety- first rule. *Crop.Sci.* 30, 369-374.
59. Falque M. (2011). Évolution des méthodes de génotypage. Consulté le 29/12/2020, sur : <https://www.researchgate.net/publication/>
60. Fang, Y., & Xiong, L. (2015). General mechanisms of drought response and their application in drought resistance improvement in plants. *Cellular and molecular life sciences*, 72(4), 673-689.
61. Fagnano M, Maggio A, 2018. On the interactions among tropospheric ozone levels and typical environmental stresses challenging Mediterranean crops. *ENVIRON SCI POLLUT R* 25: 8174-8180.
62. Faostat. (2020): Food and Agriculture Organization (FAO) of the United Nations. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/TP>, consulté en septembre 2020.
63. Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., et Basra, S.M.A. (2009). Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development*, 29, 185–212.
64. Fick, G. W., Holt, D. A., & Lugg, D. G. (1988). Environmental physiology and crop growth. *Alfalfa and alfalfa improvement*, 29, 163-194.
65. Gallais, A. (2015). Comprendre l'amélioration des plantes: Enjeux, méthodes, objectifs et critères de sélection. *Quae*.
66. Gao, R., Feyissa, B. A., Croft, M., & Hannoufa, A. (2018). Gene editing by CRISPR/Cas9 in the obligatory outcrossing *Medicago sativa*. *Planta*, 247(4), 1043-1050.
67. Gauch HG, 2006. Statistical analysis of yield trials by AMMI and GGE. *CROP SCI* 46: 1488-1500.
68. Gauch HG, Piepho HP, Annicchiarico P, 2008. Statistical analysis of yield trials by AMMI and GGE: Further considerations. *CROP SCI* 48: 866-889.
69. GNIS, 2020. Groupement National Interprofessionnel des Semences et plants, <http://www.prairies-gnis.org/pages/luzerne4.htm>
70. Grieve CM, Grattan SR, Maas EV, 2012. Plant salt tolerance. In: *Agricultural Salinity Assessment and Management* (2nd edition); Wallender WW, Tanji KK, pp: 405-459. ASCE, Resto, VA, USA.

71. Guines, F. (2002). Bases génétiques des variations pour la structure histologique des tiges de luzerne (*Medicago sativa* L.). Thèse de Doctorat, Ecole nationale Supérieure Agronomique de Rennes, France.
72. Hamdia, M. A. E. S., Shaddad, M. A. K., & Doaa, M. M. (2004). Mechanisms of salt tolerance and interactive effects of *Azospirillum brasilense* inoculation on maize cultivars grown under salt stress conditions. *Plant Growth Regulation*, 44(2), 165-174.
73. Hamrit, S. (1995). Situation des fourrages en Algérie. *Al Awamia*, 89, 97-108.
74. Hawkins, C., & Yu, L. X. (2018). Recent progress in alfalfa (*Medicago sativa* L.) genomics and genomic selection. *The Crop Journal*, 6(6), 565-575.
75. Hayek T, Loumerem M, Nagaz K, Thabet M, 2008. Growth development and dry matter yield of 16 Lucerne genotypes cultivated in south Tunisia. *Options Méditerranéennes Series A 79* : 299-302.
76. Helgadóttir Á. et al. (2016) Breeding Forages to Cope with Environmental Challenges in the Light of Climate Change and Resource Limitations. In: Roldán-Ruiz I., Baert J., Reheul D. (eds) *Breeding in a World of Scarcity*. Springer, Cham.
77. Hossain, A., Farooq, M., Sabagh, A. E., Hasanuzzaman, M., Erman, M., & Islam, T. (2020). Morphological, Physiobiochemical and Molecular Adaptability of Legumes of Fabaceae to Drought Stress, with Special Reference to *Medicago Sativa* L. In *The Plant Family Fabaceae* (pp. 289-317). Springer, Singapore.
78. Hrbáčková, M., Dvořák, P., Takáč, T., Tichá, M., Luptovciak, I., Šamajová, O., Ovecka, M., & Šamaj, J. (2020). Biotechnological perspectives of omics and genetic engineering methods in alfalfa. *Frontiers in plant science*, 592.
79. INRAA (2006) : Deuxième rapport national sur l'état des ressources phylogénétiques. INRAA, juin 2006, Alger ; 68 pages.
80. Issolah, R. (2008). Les fourrages en Algérie: Situation et perspectives de développement et d'amélioration. *Recherche agronomique*, 22, 34-47.
81. Jiang, G. L. (2015). Molecular marker-assisted breeding: a plant breeder's review. In *Advances in plant breeding strategies: breeding, biotechnology and molecular tools* (pp. 431-472). Springer, Cham.
82. Jiang, X. Q., Zhang, F., Zhen, W. , Long, R. C., LI, M. N., Fei, H. E., , Yang, X. J., Yang, C. F., Jiang, X., Yang, Q. C. , Wang, Q. Z., & Kang, J. M. (2022). Detection of quantitative trait loci (QTL) associated with spring regrowth in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Journal of Integrative Agriculture*, 21(3), 812-818.

83. Julier, B., Louarn, G., Gastal, F., Surault, F., Sampoux, J. P., Maamouri, A., & Fernandez, C. (2014). Les associations graminées-légumineuses prairiales. Comment sélectionner des variétés pour accroître leur productivité et faciliter leur conduite?. *Innovations Agronomiques* (40), 61-72.
84. Julier, B., Barre, P., Lambroni, P., Delaunay, S., Lafaillette, F., Thomasset, M., & Gensollen, V. (2018). La distinction des variétés de luzerne pourrait s'appuyer sur les marqueurs moléculaires. 2. Rencontres Francophones sur les Légumineuses (RFL2), Toulouse, France. 344 p. fihal-02052960ff.
85. Justes, E., Bedoussac, L., Corre-Hellou, G., Fustec, J., Hinsinger, P., Jeuffroy, M. H., Journet E.P., Louarn G., Naudin C., & Pelzer, E. (2014). Les processus de complémentarité de niche et de facilitation déterminent le fonctionnement des associations végétales et leur efficacité pour l'acquisition des ressources abiotiques. *Innovations agronomiques*, 40, 1-24.
86. Kadri, A., Julier, B., Laouar, M., Ben, C., Badri, M., Chedded, J., ... & Abdelguerfi, A. (2017). Genetic determinism of reproductive fitness traits under drought stress in the model legume *Medicago truncatula*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 39(10), 1-16.
87. Kalu, B. A., & Fick, G. W. (1981). Quantifying Morphological Development of Alfalfa for Studies of Herbage Quality 1. *Crop science*, 21(2), 267-271.
88. Kang, J., Jiang, X., Zhang, F., Wang, Z., Long, R., Li, M., He, F., Yang, X., Yang, C., Jiang, X., Yang, Q. & Wang, Q. (2020). Detection of Quantitative Trait Loci (QTL) associated with the spring regrowth vigor trait in alfalfa (*Medicago sativa* L.).
89. Kausch, A. P., Nelson-Vasilchik, K., Hague, J., Mookkan, M., Quemada, H., Dellaporta, S., Fragoso, C., & Zhang, Z. J. (2019). Edit at will: Genotype independent plant transformation in the era of advanced genomics and genome editing. *Plant Science*, 281, 186-205.
90. Kumar, T., Bao, A. K., Bao, Z., Wang, F., Gao, L., & Wang, S. M. (2018). The progress of genetic improvement in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 54(2), 41-51.
91. Lagoune H. (2017). Etude de comportement (4ème année d'essai) de 154 populations de luzerne (*Medicago sativa* L.). Mém. Ing. ENSA, El Harrach, Alger, Algérie, 61p.
92. Langmead, B., & Salzberg, S. L. (2012). Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. *Nature methods*, 9(4), 357-359.
93. Laouar, M. (2022). Communication orale.

94. Lavoinnie, M., & Pérès, M. (1993). Intérêt des associations fourragères graminées-luzerne pour économiser la fumure azotée. *Fourrages*, 134, 205-210.
95. Lebois, S., Larbre, D., & Surault, F. (2008, March). Utilisation des luzernes en association avec des graminées: conséquences sur la productivité, la qualité et le salissement des cultures. Premiers résultats. In *Journées de l'AFPF*.
96. Lery F., 1982. *Techniques agricoles et production méditerranéennes.3. L'agriculture au Maghreb ou pour une agronomie méditerranéenne*. G.-P. Maisonneuve et Larose, Paris, 338p.
97. Li, X., & Brummer, E. C. (2012). Applied genetics and genomics in alfalfa breeding. *Agronomy*, 2(1), 40-61.
98. Li, H., Wang, Z., Ke, Q., Ji, C. Y., Jeong, J. C., Lee, H. S., Lim, Y. P., Xu, B., Deng, X.P., & Kwak, S. S. (2014). Overexpression of *codA* gene confers enhanced tolerance to abiotic stresses in alfalfa. *Plant Physiology and Biochemistry*, 85, 31-40.
99. Li, X., Wei, Y., Acharya, A., Jiang, Q., Kang, J., & Brummer, E. C. (2014). A saturated genetic linkage map of autotetraploid alfalfa (*Medicago sativa* L.) developed using genotyping-by-sequencing is highly syntenous with the *Medicago truncatula* genome. *G3: genes, genomes, genetics*, 4(10), 1971-1979.
100. Lin, C. S., Binns, M. R., & Lefkovich, L. P. (1986). Stability analysis: where do we stand? 1. *Crop science*, 26(5), 894-900.
101. Liu, X. P., Hawkins, C., Peel, M. D., & Yu, L. X. (2019). Genetic Loci Associated with Salt Tolerance in Advanced Breeding Populations of Tetraploid Alfalfa Using Genome-Wide Association Studies. *The Plant Genome*, 12(1).
102. Lu, F., 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 Genet*, 9(1), e1003215.
103. Lomri O. (2015). Comportement et sélection de 154 populations de luzerne pérenne en 2eme année d'essai. *Mém. Ing. ENSA, El Harrach, Alger, Algérie*, 41p.
104. Long, R., Zhang, F., Zhang, Z., Li, M., Chen, L., Wang, X., Liu, W., Zhang, T., Yu, L., He, F., Jiang, X., Yang, X., Yang, C., Wang Z., Kang J. & Yang, Q. (2022). Genome assembly of alfalfa cultivar zhongmu-4 and identification of SNPs associated with agronomic traits. *Genomics, proteomics & bioinformatics*.

105. Loussaief L, Mezni M, Smiti SA, 2009. Stress hydrique et écophysiologie de deux cultivars de luzerne pérenne (*Medicago sativa* L.) Gabès et Aquarius. *Science et Changements Planétaires, Sécheresse* 20 : 303-311.
106. MADR (2019). Statistiques agricoles, Série A et B, des superficies et production fourragères et l'effectif du cheptel national des ruminants des années 2008 à 2017. Ministère de l'agriculture et du Développement Rural.
107. MADR (2020). Modernisation du secteur agricole. Réunion sectorielle. 19 février 2020. Consulté le 29/08/2020, <http://madrp.gov.dz/reunion-sur-la-modernisation-du-secteur-agricole/>
108. Maamouri, A. (2014). Variabilité génétique de la luzerne cultivée en association avec une graminée fourragère (Doctoral dissertation, Université de Poitiers).
109. Mahmodi, N., Yaghotipoor, A., & Farshadfar, E. (2011). AMMI stability value and simultaneous estimation of yield and yield stability in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Australian Journal of Crop Science*, 5(13), 1837-1844.
110. Makhlof, M., Montaigne, E., & Tessa, A. (2015). La politique laitière algérienne: entre sécurité alimentaire et soutien différentiel de la consommation. *New Medit*, (1), 12-23.
111. Makhlof, M., Montaigne, E. (2016). La dynamique du marché mondial des produits laitiers. *Livestock Research for Rural Development, Centro para la Investigación en Sistemas Sostenibles de Producción Agropecuaria*, 28 (10), pp.1-11.
112. Marble, V. L. (1993). Des fourrages pour le Proche-Orient: La luzerne (No. 632.93 F3f v. 97/1). FAO.
113. Mauriès, M. (1994). Luzerne aujourd'hui. France Agricole Editions.
114. Mauriès, M. (2003). La luzerne: culture, récolte, conservation, utilisation. France Agricole Editions.
115. Medina, C. A., Hawkins, C., Liu, X. P., Peel, M., & Yu, L. X. (2020). Genome-Wide Association and Prediction of Traits Related to Salt Tolerance in Autotetraploid Alfalfa (*Medicago sativa* L.). *International journal of molecular sciences*, 21(9), 3361.
116. Medina, C. A., Kaur, H., Ray, I., & Yu, L. X. (2021). Strategies to increase prediction accuracy in genomic selection of complex traits in Alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Cells*, 10(12), 3372.

117. Melis R. A. M., Julier B., Pecetti L., Thami-Alami I., Abbas K., et al.. La culture de la luzerne dans un climat méditerranéen. booklet is a deliverable of the project REFORMA, Working Package 3. 2017, 19 p. <hal-01594651>
118. Merdjane, L. (2014). Situation et possibilité de développement des ressources alimentaires destinées aux herbivores en Algérie (Doctoral dissertation, École Nationale Supérieure Vétérinaire).
119. Merdjane, L., & Yakhlef, H. (2016). Le déficit fourrager en zone semi-aride: une contrainte récurrente au développement durable de l' élevage des ruminants. *Revue Agriculture*. Numéro spécial, 1, 43-51.
120. Michaud R, Lehman WF, Rumbaugh MD, 1988. World distribution and historical development. In: Alfalfa and alfalfa improvement; Hanson AA, Barnes DK, Hill RR (eds.), American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, pp: 25-91.
121. Moghaddam, A., Raza, A., Vollmann, J., Ardakani, M. R., Wanek, W., Gollner, G., & Friedel, J. K. (2015). Biological nitrogen fixation and biomass production stability in alfalfa (*Medicago sativa* L.) genotypes under organic management conditions. *Biological Agriculture & Horticulture*, 31(3), 177-192.
122. Morso C. (2019). Etude de comportement de deux légumineuses fourrages (*Pisum sativum* L. et *Medicago sativa* L.) à un stade de sélection avancé. Mém. Ing. ENSA, El Harrach, Alger, Algérie, 87 p.
123. Mouradi, M., Farissi, M., Bouzigaren, A., Lahrizi, Y., Qaddoury, A., & Ghoulam, C. (2018). Alfalfa and Its Symbiosis Responses to Osmotic Stress. In *New Perspectives in Forage Crops*. InTech.
124. Nadeem, M., Li, J., Yahya, M., Sher, A., Ma, C., Wang, X., & Qiu, L. (2019). Research progress and perspective on drought stress in legumes: A review. *International journal of molecular sciences*, 20(10), 2541.
125. Noziere, P., Sauvant, D., & Delaby, L. (2018). Inra, 2018. Alimentation des ruminants. Editions Quae, 728p.
126. Numan M, Bashir S, Khan Y, Mumtaz R, Shinwari ZK, Khan AL, Khan A, Al-Harrasi A , 2018. Plant growth promoting bacteria as an alternative strategy for salt tolerance in plants: A review. *Microbiol Res* 209:21–32.
127. Olszewska, M., Grzegorzczuk, S., & Grabowski, K. (2020). The yield and nutrient content of mixtures alfalfa with cocksfoot. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 57(3).

128. Ouarfli L. et Chehma A., 2011. Etude critique de la pratique de l'alimentation des bovins laitiers dans la région d'Ouargla. *Revue des BioRessources*, vol. 1, n. 2, p.p. 13-18.
129. Paragon, B. M., Andrieu, J. P., Brunshwig, P., Brunshwig, F., Griess, D., Heuchel, V., Piriou, B., Weiss, P. & Valentin, S. (2004). *Bonnes pratiques de fabrication de l'ensilage pour une meilleure maîtrise des risques sanitaires*. Agence française de sécurité sanitaire des aliments. Editions afssa, 1-118.
130. Pecetti L, Annicchiarico P, De Rosa L, Proietti S, 2013. Targeting lucerne cultivars to saline-soil environments. In: Barth S., Milbourne D. (eds) *Breeding strategies for sustainable forage and turf grass improvement*. Springer, Dordrecht, Sept 4-8 .pp :249-253.
131. Pecetti, L., Barre, P., Delaunay, S., Lambroni, P., Annicchiarico, P., & Julier, B. (2021). QTL analysis for grazing tolerance, autumn dormancy and growth habit offers prospects for marker-assisted selection in lucerne. *Euphytica*, 217(8), 1-11.
132. Pecetti L, Carroni AM, Annicchiarico P, Manunza P, Longu A, Congiu, G, 2008. Adaptation, summer survival and autumn dormancy of lucerne cultivars in a south European Mediterranean region (Sardinia). *Options Méditerranéennes Series A* 79 : 471-474.
133. Peverill KI, Sparrow LA, Reuter DJ, 1999. *Soil analysis: an interpretation manual*. CSIRO Publishing, Collingwood, Vic, 369 pp.
134. PNC, 2019. *Rapport du Plan National Climat Algérie*. Ministère de l'Environnement et des Energies Renouvelables.
135. Postnikova, O. A., Shao, J., & Nemchinov, L. G. (2013). Analysis of the alfalfa root transcriptome in response to salinity stress. *Plant and Cell Physiology*, 54(7), 1041-1055.
136. Purchase JL, Hatting H, Van Deventer CS, 2000. Genotype× environment interaction of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) in South Africa: II. Stability analysis of yield performance. *S Afr J Plant Soil* 17: 101-107.
137. Quézel, P., & Santa, S. (1962). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*.
138. Quiros, C. F. & Bauchan, G. R. (1988). The genus *Medicago* and the origin of the *Medicago sativa* Complex. *Alfalfa and alfalfa improvement, (alfalfaandalfal)*, 93-124.

139. Rumbaugh, M. D., Caddel, J. L., & Rowe, D. E. (1988). Breeding and quantitative genetics. *Alfalfa and alfalfa improvement, (alfalfaandalfal)*, 777-808.
140. Sakiroglu, M., & Brummer, E. C. (2017). Identification of loci controlling forage yield and nutritive value in diploid alfalfa using GBS-GWAS. *Theoretical and applied genetics*, 130(2), 261-268.
141. Şakiroğlu, M., & İlhan, D. (2020) *Medicago sativa* species complex: Re-visiting the century old problem in the light of molecular tools. *Crop Science*. doi.org/10.1002/csc2.20316.
142. Singh, V. K., Singh, A. K., Singh, S., & Singh, B. D. (2015). Next-generation sequencing (NGS) tools and impact in plant breeding. In *Advances in Plant Breeding Strategies: Breeding, Biotechnology and Molecular Tools* (pp. 563-612). Springer, Cham.
143. Small, E. (2010). *Alfalfa and relatives: Evolution and classification of Medicago*. NRC Research Press/CAB International: Ottawa, Canada, Wallingford, 727 pp.
144. Stritzler, M., Elba, P., Berini, C., Gomez, C., Ayub, N., & Soto, G. (2018). High-quality forage production under salinity by using a salt-tolerant AtNXH1-expressing transgenic alfalfa combined with a natural stress-resistant nitrogen-fixing bacterium. *Journal of biotechnology*, 276, 42-45.
145. Tagu, D. Jaubert-Possamai, S. & Méreau, A. (2018). *Principe des techniques de biologie moléculaire et génomique: 3e édition* Editions Quae, 312 p.
146. Tang, L., Cai, H., Ji, W., Luo, X., Wang, Z., Wu, J., ... & Bai, X. (2013). Overexpression of GsZFP1 enhances salt and drought tolerance in transgenic alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Plant physiology and biochemistry*, 71, 22-30.
147. Tardieu, F. (2013). Plant response to environmental conditions: assessing potential production, water demand, and negative effects of water deficit. *Frontiers in physiology*, 4, 17.
148. Tedjari, N. (2018). *Contribution à l'amélioration des systèmes fourragers dans la région semi-aride de Sétif (cas des prairies naturelles)*. Doctoral dissertation, Université Ferhat Abbas, Sétif, 154p.
149. Teuber, L. R., & Brick, M. A. (1988). Morphology and anatomy. *Alfalfa and alfalfa improvement*, 29, 125-162.

150. Teuber LR, Taggard KL, Gibbs LK, McCaslin MA, Peterson MA, Barnes DK (1998). Fall dormancy. In *Standard Tests to Characterize Alfalfa Cultivars (Revised 1998)*. Available at <http://www.naaic.org/stdtests/Dormancy2.html>. 1–3.
151. Uijtewaal, A., Tinnière, P. A., Bricard, E., Féraud, A., & Deleau, D. (2017). L'enrubannage, une solution pour récolter et conserver les légumineuses fourragères?. *Innovations Agronomiques* 60, 107-124.
152. Valiollahi, E., Paiva, J. A. P., & Duque, A. S. (2020). Genetic Engineering and Genome Editing for the Improvement of Fabaceae for Abiotic Stress Tolerance. In *The Plant Family Fabaceae* (pp. 113-159). Springer, Singapore.
153. Varshney R.K., Roorkiwal M., Sorrells M.E. (2017) Genomic Selection for Crop Improvement: An Introduction. In: Varshney R., Roorkiwal M., Sorrells M. (eds) *Genomic Selection for Crop Improvement*. Springer, Cham.
154. Villax, E. (1963). La culture des plantes fourragères dans la région méditerranéenne occidentale, Edmond Joseph Villax. *Les cahiers de la recherche agronomique*, 17.
155. Vignau-Loustau, L., & Huyghe, C. (2008). *Stratégies fourragères*. France Agricole Editions.
156. Volaire F, Barkaoui K, Norton M, 2014. Designing resilient and sustainable grasslands for a drier future: adaptive strategies, functional traits and biotic interactions. *Eur J Agron* 52: 81-89.
157. Wang, C., Ma, B. L., Yan, X., Han, J., Guo, Y., Wang, Y., & Li, P. (2009). Yields of alfalfa varieties with different fall-dormancy levels in a temperate environment. *Agronomy Journal*, 101(5), 1146-1152.
158. Wang, Z., Wang, X., Zhang, H., Ma, L., Zhao, H., Jones, C. S., Chen, J. & Liu, G. (2020). A genome-wide association study approach to the identification of candidate genes underlying agronomic traits in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Plant Biotechnology Journal*, 18(3), 611-613.
159. Xiao, Q., Bai, X., Zhang, C., & He, Y. (2022). Advanced high-throughput plant phenotyping techniques for genome-wide association studies: A review. *Journal of Advanced Research*, 35, 215-230.
160. Yan, W., Hunt, L. A., Sheng, Q., & Szlavnic, Z. (2000). Cultivar evaluation and mega-environment investigation based on the GGE biplot. *Crop Science*, 40(3), 597-605.

161. Yan, W. (2001). GGEbiplot—A Windows application for graphical analysis of multi-environment trial data and other types of two-way data. *Agronomy journal*, 93(5), 1111-1118.
162. Yan, W., Cornelius, P. L., Crossa, J., & Hunt, L. A. (2001). Two types of GGE biplots for analyzing multi-environment trial data. *Crop Science*, 41(3), 656-666.
163. Yan, W., & Tinker, N. A. (2006). Biplot analysis of multi-environment trial data: Principles and applications. *Canadian journal of plant science*, 86(3), 623-645.
164. Yan, W., Kang, M. S., Ma, B., Woods, S., & Cornelius, P. L. (2007). GGE biplot vs. AMMI analysis of genotype-by-environment data. *Crop science*, 47(2), 643-653.
165. Yang, C., Zhang, F., Jiang, X., Yang, X., He, F., Wang, Z., Long, R., Chen, L., Yang, T., Wang, C., Gao, T., Kang, J., & Yang, Q. (2021). Identification of genetic loci associated with crude protein content and fiber composition in alfalfa (*medicago sativa* L.) using QTL mapping. *Frontiers in plant science*, 12, 210.
166. Yu, L. X., Medina, C. A., & Peel, M. (2021). Genetic and Genomic Assessments for Improving Drought Resilience in Alfalfa. In *The Alfalfa Genome* (pp. 235-253). Springer, Cham.
167. Zaida W. (2016). Évaluation de la performance de la nouvelle politique de régulation de la production nationale de lait cru. *REVUE NOUVELLE ECONOMIE (الجدید الإقتصادیة)*, 2(15), 51-67.
168. Zhang, F., Kang, J., Long, R., Yu, L. X., Wang, Z., Zhao, Z., Zhang, T., & Yang, Q. (2019). High-density linkage map construction and mapping QTL for yield and yield components in autotetraploid alfalfa using RAD-seq. *BMC plant biology*, 19(1), 1-12.
169. Zhang, J. Y., Broeckling, C. D., Blancaflor, E. B., Sledge, M. K., Sumner, L. W., & Wang, Z. Y. (2005). Overexpression of WXP1, a putative *Medicago truncatula* AP2 domain-containing transcription factor gene, increases cuticular wax accumulation and enhances drought tolerance in transgenic alfalfa (*Medicago sativa*). *The Plant Journal*, 42(5), 689-707.
170. Zhang, J., Duan, Z., Zhang, D., Zhang, J., Di, H., Wu, F., & Wang, Y. (2016). Co-transforming *bar* and *CsLEA* enhanced tolerance to drought and salt stress in transgenic alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Biochemical and biophysical research communications*, 472(1), 75-82.

171. Zhang, L. Q., Niu, Y. D., Huridu, H., Hao, J. F., Qi, Z., & Hasi, A. (2014). *Salicornia europaea* L. Na⁺/H⁺ antiporter gene improves salt tolerance in transgenic alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Genet Mol Res*, 13(3), 5350-5360.
172. Zhang, Y. M., Liu, Z. H., Wen, Z. Y., Zhang, H. M., Yang, F., & Guo, X. L. (2012). The vacuolar Na⁺-H⁺ antiport gene TaNHX2 confers salt tolerance on transgenic alfalfa (*Medicago sativa*). *Functional Plant Biology*, 39(8), 708-716.
173. Zheng, G., Fan, C., Di, S., Wang, X., Xiang, C., & Pang, Y. (2017). Over-expression of *Arabidopsis* EDT1 gene confers drought tolerance in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Frontiers in plant science*, 8, 2125.
174. Zobel RW, Wright MJ, Gauch HG, 1988. Statistical analysis of a yield trial. *Agron. J* 80: 388-393.
175. Zoghlami, A., Nefzaoui, A., & Seklani, H. (1995). Étude de trois associations luzerne-graminée pérenne en zone semi-aride de Tunisie. *Fourrages*, 142, 181-190.

Webographie

176. <https://www.aci-algerie.com/luzerne/>, consulté le 30 octobre 2020.
177. <http://www.cealpa.es>, consulté le 25 janvier 2021.
178. <https://comtrade.un.org/>, Consulté septembre, 2020.
179. <https://www.cph-agro.com/categorie-produit/semence/>, consulté le 30 octobre 2020.
180. <http://www.hautegaronne.chambre-agriculture.fr>, consulté le 15 avril 2022.
181. <http://www.illumina.com>
182. <http://www.infoclimat.fr/climatologie/annee/alger-port>
183. <https://www.nafosa.es>, consulté le 25 janvier 2021
184. <http://reforma.entecra.it/>

Annexes

Annexe 1 : Nombre de tête de cheptel et ces différentes catégories au niveau national de 2008 à 2016 et 2019 (MADR, 2019)

	Bovin Laitier/Tête	bovin/Tête	Ovin/Tête	Caprin/Tête	Total cheptel/Tête	% Bovin Laitier	% Bovin	% Ovin	% Caprin
2008	853 523	1 640 730	19 946 150	3 751 360	25 863 780	3,3	6,34	77,12	14,5
2009	882 282	1 682 433	21 404 584	3 962 120	27 586 148	3,2	6,1	77,59	14,36
2010	915 400	1 747 700	22 868 770	4 287 300	29 437 805	3,11	5,94	77,69	14,56
2011	940 690	1 790 140	23 989 330	4 411 020	30 734 530	3,06	5,82	78,05	14,35
2012	966 097	1 843 930	25 194 105	4 594 525	32 191 105	3	5,73	78,26	14,27
2013	1 008 575	1 909 455	26 572 980	4 910 700	33 947 240	2,97	5,62	78,28	14,47
2014	1 072 512	2 049 652	27 807 734	5 129 839	35 548 810	3,02	5,77	78,22	14,43
2015	1 107 800	2 149 549	28 111 773	5 013 950	35 822 922	3,09	6	78,47	14
2016	1 066 625	2 081 306	28 135 986	4 934 701	35 708 907	2,99	5,83	78,79	13,82
2019	932 875	1 786 351	29 378 561	4 929 069	37 026 856	2,52	4,82	79,34	13,31

Annexe 2 : Données climatiques mensuelles (Pluviométrie et température) du site « Alger » (2004-2008) (Projet PERMED)

Année	Mois	Sep	Oct	Nov	Déc	Janv	Févr	Mars	Avr	Mai	Juin	Juil	Août	Annuel
2004-2005	Temp.Moy.	24,5	21,6	13,6	11,4	7,5	8,9	11,8	15,5	19,3	23,2	31,3	25,3	17,14
	Précp.	9,4	34,6	108,5	114,2	100	146,4	73,6	39,4	0	0	0	0	626,1
2005-2006	Temp.Moy.°C	22,5	20,8	14,8	12	10,1	10,9	20,8	17,9	20,8	23,1	26	25,6	18,77
	Précp. mm	13,4	60	137	78,7	105,6	98,5	64,3	6,2	64,3	1,8	0	0	629,8
2006-2007	Temp.Moy.	23,2	22,7	17,9	16,9	12,2	14	11,8	16,6	19,6	23,1	26,5	25,9	19,2
	Précp.	31,3	9,7	16,1	237,1	27,4	66,7	139,6	71,8	15,2	3,1	0	0	618
2007-2008	Temp.Moy.	23,9	20,5	13,2	11,5	14,8	15	15,8	18,6	19,6	22,8	26	27,4	19,09
	Précp.	33,2	97,6	297,8	74,6	21	22	73	15	111	8	4	0	757,2

Annexe 3 : Données climatiques mensuelles (Pluviométrie et température) du site « Hmadna » (2004-2008) (Projet PERMED) par station météorologique de la station de bioclimatologie I.N.R.A.A de Hmadna.

Année	Mois	Sep	Oct	Nov	Déc	Janv	Févr	Mars	Avr	Mai	Juin	Juil	Août	Annuel
2004-2005	Temp.Moy.	26,5	24,6	14,9	13,5	9,5	15	15,1	16,8	24,5	27	31,6	30	20,75
	Précp.	4	51	39	70	3	50	12	3	1	0	0	0	233
2005-2006	Temp.Moy.°C	24,61	21,44	14,12	11,57	9,2	9,75	13,96	19,46	24,77	26,16	31,57	28,41	19,58
	Précp. mm	14,9	20,9	75,9	36,8	29,6	71,6	7	17,3	37,6	4,2	0	0	315,8
2006-2007	Temp.Moy.	25,58	22,93	17,19	13,01	10,71	13,42	12,74	15,24	21,08	25,28	29,76	29,06	19,67
	Précp.	0,7	1,8	0,3	70,4	46,9	24,7	56,5	108	19,2	0	0	0	328,5
2007-2008	Temp.Moy.	26	21	13,1	11	12	14	15	18	19,8	25,1	29,9	30	19,07
	Précp.	34	47	30	5	15	13	11	10	39	3	5	0	212

Annexe 4 : Données climatiques du site de l'essai du projet REFORMA de janvier 2014 à Juillet 2018 (<http://www.infoclimat.fr/climatologie/annee/alger-port>)

Année	Mois	Sep	Oct	Nov	Déc	Janv	Févr	Mars	Avr	Mai	Juin	Juil	Août	Annuel
2013-2014	Temp.Moy.	24	23,3	14,7	12,2	13,2	13,6	13,1	17,2	18,1	22,5	25,2	26,6	18,64
	Précp.	13	18	199	63	69	55	76	1	5	51	0	0	550,00
2014-2015	Temp.Moy.°C	26,2	21,4	17,9	12,4	13,3	12,6	15,6	17,6	20,5	22,9	26,7	27,2	19,53
	Précp. mm	8	39	67	164	86	110	39	0	14	8	0	1	536,00
2015-2016	Temp.Moy.	24,9	22,4	17,9	16,6	16,2	16,1	15,1	18,3	20,4	22,8	25,1	25,4	20,10
	Précp.	8	149	102	0	73	112	95	28	19	0	2	0	588,00
2016-2017	Temp.Moy.	24,8	23,9	18,9	16,1	13,4	16,2	17,2	17,8	20,5	24	26,7	27,5	20,58
	Précp.	32	5	147	62	195	27	41	7	2	11	0	0	529,00
2017-2018	Temp.Moy.	24,5	21,4	18,1	14,4	15,1	13	16,6	18	18,7	22,5	26,6	26,8	17,79
	Précp.	29	16	103	148	49	135	132	105	33	40	0	0	790

Annexe 5 : La randomisation des 154 génotypes sur les 4 réplications

Réplication1	Plot 1	Plot 2	Plot 3	Plot 4	Plot 5	Plot 6	Plot 7	Plot 8	Plot 9	Plot 10	Plot 11
Ameristand 1	143	32	38	43	116	65	154	77	2	25	52
Ameristand2	19	10	20	55	139	16	68	60	153	82	99
Ameristand3	50	26	45	84	69	17	53	117	152	135	28
Ameristand4	151	14	63	51	85	114	3	79	129	142	75
Ameristand5	59	98	36	29	83	9	48	122	76	150	136
Ameristand6	113	126	104	73	120	24	11	87	111	31	134
Ameristand7	128	103	72	137	5	140	42	39	7	81	13
Ameristand8	56	106	23	118	138	115	15	102	37	86	107
Ameristand9	47	74	35	141	1	148	89	101	78	92	144
Ameristand10	27	33	131	125	133	64	91	58	96	100	41
Ameristand11	97	130	145	22	61	21	95	12	112	105	18
Ameristand12	70	88	40	80	49	127	6	132	119	90	110
Ameristand13	108	62	54	66	109	8	93	94	124	44	34
Ameristand14	149	30	57	121	123	71	4	147	67	46	146

Réplication2	Plot 1	Plot 2	Plot 3	Plot 4	Plot 5	Plot 6	Plot 7	Plot 8	Plot 9	Plot 10	Plot 11
1	118	97	119	59	34	11	49	45	103	57	64
2	150	26	139	7	38	15	43	134	109	4	85
3	128	40	111	114	91	18	83	8	154	123	31
4	129	28	110	136	112	22	89	27	140	102	30
5	71	41	10	101	32	86	95	148	29	117	93
6	122	132	33	143	63	135	94	12	151	126	55
7	131	68	87	17	36	39	107	145	125	144	142
8	35	108	70	137	37	65	14	120	149	152	66
9	141	51	69	21	147	67	54	6	60	56	73
10	58	113	82	50	130	146	3	53	116	78	88
11	1	5	2	84	46	62	99	75	133	16	9
12	106	25	90	19	124	81	13	48	74	105	104
13	47	61	20	52	121	115	80	44	42	100	23
14	72	24	77	76	96	92	153	79	98	127	138

Réplication3	Plot 1	Plot 2	Plot 3	Plot 4	Plot 5	Plot 6	Plot 7	Plot 8	Plot 9	Plot 10	Plot 11
1	2	30	11	12	124	148	152	130	7	127	23
2	114	88	4	34	115	9	6	77	81	87	21
3	57	136	133	86	35	153	40	19	63	53	10
4	109	105	17	51	33	16	110	121	37	101	91
5	22	24	119	46	56	94	65	128	74	71	36
6	76	32	125	14	146	85	45	106	55	89	61
7	103	96	38	29	82	104	140	66	75	132	69
8	41	13	62	47	154	120	68	129	98	73	135
9	139	44	31	93	137	122	138	116	27	142	49
10	72	118	78	112	131	123	84	90	20	54	26
11	64	15	8	92	95	126	144	42	50	67	70
12	97	111	58	1	52	39	28	25	60	151	150
13	79	141	145	99	113	149	83	117	100	43	59
14	3	108	107	18	134	143	80	5	48	102	147

Réplication4	Plot 1	Plot 2	Plot 3	Plot 4	Plot 5	Plot 6	Plot 7	Plot 8	Plot 9	Plot 10	Plot 11
1	113	98	110	15	137	61	84	46	124	63	97
2	28	31	146	80	69	43	118	153	105	92	62
3	76	141	70	47	33	12	34	38	123	39	86
4	93	50	71	77	150	125	51	5	40	90	11
5	17	2	74	59	67	58	129	103	115	143	139
6	142	66	19	89	3	100	4	119	25	135	95
7	65	102	148	8	140	87	79	122	53	109	20
8	111	56	26	132	41	121	35	81	27	85	145
9	108	21	83	91	30	82	10	45	13	1	138
10	136	94	106	88	37	154	42	130	134	131	99
11	18	9	96	36	14	49	60	78	23	120	117
12	116	72	7	75	22	6	101	55	64	48	73
13	144	149	128	32	127	16	107	151	57	54	104
14	133	29	152	112	68	147	114	44	52	126	24

Annexe 6: Rendement total moyen en matière sèche (TDMY) cumul des 3 ans d'étude des 154 génotypes, N°G. : Numéro de génotype, Moy. : Moyenne des 4 réplifications.

N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.
1	22.76	119	22.42	139	17.10	2	11.18	4	15.73	6	16.50	8	23.91
10	14.45	12	12.78	14	17.12	20	20.78	40	22.65	60	17.74	80	18.48
100	20.21	120	17.18	140	21.99	21	17.99	41	19.10	61	14.03	81	21.40
101	21.09	121	22.06	141	20.63	22	22.38	42	21.26	62	19.01	82	21.58
102	23.56	122	17.11	142	14.58	23	16.15	43	23.75	63	20.68	83	18.02
103	21.12	123	16.23	143	25.41	24	14.04	44	15.20	64	14.36	84	20.49
104	21.20	124	17.02	144	13.96	25	14.44	45	19.27	65	15.05	85	27.20
105	18.54	125	15.18	145	18.36	26	26.86	46	22.51	66	12.12	86	12.79
106	20.89	126	19.35	146	18.63	27	22.49	47	16.53	67	19.79	87	14.49
107	17.66	127	14.30	147	21.59	28	21.25	48	17.41	68	15.75	88	18.68
108	16.60	128	23.16	148	19.98	29	23.49	49	20.29	69	15.92	89	21.75
109	17.50	129	18.91	149	12.98	3	19.30	5	22.15	7	16.06	9	16.59
11	20.76	13	15.52	15	22.85	30	21.08	50	19.74	70	12.52	90	19.80
110	17.79	130	23.13	150	20.82	31	22.75	51	20.70	71	18.18	91	15.28
111	12.38	131	19.05	151	19.27	32	23.74	52	21.32	72	18.45	92	18.18
112	16.99	132	21.16	Erfoud 1	15.70	33	14.93	53	14.72	73	21.61	93	13.31
113	23.38	133	12.71	Mamuntanas	22.70	34	21.76	54	18.30	74	19.10	94	18.32
114	17.55	134	21.42	Sardi 10	17.57	35	19.40	55	19.49	75	17.65	95	22.23
115	16.78	135	18.07	16	19.96	36	16.57	56	15.24	76	19.21	96	18.08
116	18.95	136	19.35	17	16.26	37	19.28	57	18.21	77	22.67	97	21.44
117	21.32	137	21.05	18	15.57	38	20.63	58	17.79	78	6.71	98	15.99
118	22.12	138	20.32	19	21.56	39	14.64	59	20.89	79	19.53	99	19.86

Annexe 7: Rendement total moyen en matière sèche (DMY1) de la 1^{ère} année d'étude des 154 géotypes, N°G. : Numéro de géotype, Moy. : Moyenne des 4 réplifications.

N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.
1	12.45	119	11.65	139	9.70	2	5.31	4	9.60	6	9.16	8	13.33
10	7.45	12	7.13	14	9.27	20	11.49	40	13.34	60	11.47	80	10.86
100	12.45	120	11.59	140	13.00	21	10.01	41	11.28	61	6.68	81	12.27
101	12.08	121	11.28	141	11.29	22	13.06	42	12.70	62	11.44	82	13.69
102	14.15	122	10.79	142	9.13	23	10.13	43	13.93	63	12.23	83	9.03
103	13.76	123	9.69	143	12.54	24	6.04	44	9.90	64	8.52	84	11.03
104	11.67	124	10.35	144	7.41	25	8.30	45	11.91	65	9.67	85	15.05
105	10.19	125	5.41	145	9.58	26	14.47	46	12.73	66	6.01	86	7.38
106	11.24	126	11.59	146	11.14	27	12.34	47	8.83	67	11.47	87	8.24
107	9.58	127	6.17	147	11.43	28	10.47	48	9.39	68	9.10	88	11.50
108	9.04	128	13.37	148	10.03	29	12.08	49	11.27	69	6.65	89	11.33
109	10.70	129	11.04	149	6.31	3	12.61	5	11.41	7	10.37	9	10.16
11	11.54	13	10.20	15	14.21	30	12.05	50	10.50	70	7.01	90	10.15
110	10.63	130	12.33	150	12.01	31	13.45	51	10.89	71	9.87	91	8.49
111	5.69	131	10.40	151	11.32	32	14.08	52	11.83	72	9.66	92	9.21
112	9.89	132	10.68	Erfoud 1	8.54	33	7.04	53	8.19	73	12.84	93	7.01
113	12.47	133	5.67	Mamuntanas	11.50	34	12.91	54	9.50	74	9.87	94	8.88
114	10.30	134	11.93	Sardi 10	11.15	35	9.42	55	10.37	75	10.11	95	13.23
115	10.03	135	10.04	16	11.60	36	9.67	56	7.71	76	10.54	96	10.28
116	10.47	136	10.00	17	8.82	37	11.06	57	7.71	77	12.43	97	12.04
117	11.31	137	11.01	18	8.79	38	12.59	58	10.55	78	1.91	98	7.81
118	12.29	138	12.16	19	11.62	39	9.368	59	11.51	79	11.89	99	12.14

Annexe 8: Rendement total moyen en matière sèche (DMY2) de la 2^{ème} année d'étude des 154 génotypes, N°G. : Numéro de génotype, Moy. : Moyenne des 4 réplifications.

N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.
1	6.08	119	7.20	139	5.37	2	3.719	4	4.42	6	4.47	8	6.16
10	4.95	12	2.94	14	5.77	20	6.63	40	5.82	60	4.57	80	5.25
100	4.82	120	3.63	140	5.72	21	5.26	41	5.63	61	4.26	81	5.63
101	5.32	121	8.07	141	5.76	22	5.99	42	5.70	62	5.21	82	5.30
102	6.02	122	3.99	142	3.10	23	4.19	43	6.32	63	5.55	83	6.03
103	4.58	123	4.87	143	8.44	24	5.09	44	3.34	64	3.66	84	6.57
104	5.75	124	4.85	144	4.70	25	4.45	45	4.73	65	4.15	85	8.15
105	5.39	125	7.00	145	5.24	26	8.17	46	6.27	66	3.95	86	4.04
106	6.20	126	4.61	146	4.88	27	6.74	47	4.56	67	5.36	87	4.33
107	5.26	127	5.54	147	7.66	28	6.75	48	5.13	68	4.57	88	4.93
108	5.56	128	6.54	148	5.72	29	7.33	49	6.50	69	6.11	89	5.94
109	4.33	129	4.75	149	4.40	3	4.86	5	7.42	7	3.49	9	4.01
11	5.68	13	4.30	15	4.67	30	6.37	50	5.84	70	3.80	90	5.79
110	5.48	130	5.97	150	5.21	31	5.75	51	5.94	71	5.46	91	4.87
111	4.04	131	5.26	151	5.03	32	7.09	52	6.33	72	5.45	92	6.00
112	4.59	132	6.19	Erfoud 1	5.44	33	4.53	53	4.24	73	5.68	93	4.27
113	7.56	133	3.52	Mamuntanas	5.82	34	5.08	54	5.72	74	4.27	94	5.56
114	5.69	134	6.84	Sardi 10	4.26	35	5.99	55	5.64	75	4.74	95	6.00
115	5.39	135	5.08	16	4.74	36	4.05	56	4.92	76	5.30	96	5.06
116	5.62	136	6.15	17	5.01	37	5.06	57	5.42	77	6.21	97	6.41
117	6.49	137	6.37	18	4.75	38	5.77	58	5.15	78	3.39	98	5.13
118	6.23	138	5.27	19	6.53	39	4.35	59	6.48	79	4.74	99	5.03

Annexe 9: Rendement total moyen en matière sèche (DMY3) de la 3^{ème} année d'étude des 154 génotypes, N°G. : Numéro de génotype, Moy. : Moyenne des 4 réplifications.

N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.
1	4.11	119	3.49	139	2.03	2	2.01	4	1.62	6	2.61	8	4.49
10	2.00	12	2.50	14	2.31	20	2.90	40	3.44	60	1.94	80	2.48
100	2.87	120	2.29	140	3.23	21	2.65	41	2.16	61	3.14	81	3.37
101	3.37	121	2.71	141	3.53	22	3.01	42	3.03	62	2.34	82	2.60
102	3.41	122	2.28	142	2.31	23	1.96	43	3.44	63	2.87	83	2.98
103	2.76	123	1.79	143	4.46	24	2.97	44	1.99	64	1.94	84	3.06
104	3.75	124	1.73	144	1.84	25	1.59	45	2.72	65	1.26	85	4.00
105	2.80	125	2.71	145	3.43	26	4.40	46	3.45	66	2.13	86	1.21
106	3.47	126	3.16	146	2.52	27	3.26	47	3.00	67	3.00	87	1.95
107	2.82	127	2.47	147	2.64	28	4.05	48	2.79	68	2.28	88	2.25
108	2.08	128	3.19	148	4.10	29	4.08	49	2.75	69	3.26	89	4.37
109	2.44	129	3.22	149	2.22	3	1.85	5	2.65	7	1.85	9	2.54
11	3.49	13	1.04	15	3.99	30	2.53	50	3.27	70	1.71	90	3.91
110	1.62	130	4.74	150	3.61	31	3.54	51	3.48	71	2.80	91	1.84
111	2.67	131	3.55	151	2.87	32	2.50	52	3.89	72	3.21	92	2.98
112	2.55	132	4.20	Erfoud 1	1.77	33	3.19	53	3.25	73	3.00	93	1.94
113	3.34	133	3.28	Mamuntanas	5.37	34	3.73	54	2.31	74	4.89	94	3.90
114	1.62	134	2.86	Sardi 10	2.39	35	3.91	55	3.16	75	2.56	95	2.90
115	1.36	135	3.04	16	3.51	36	3.05	56	3.24	76	3.40	96	2.90
116	2.57	136	3.25	17	2.47	37	3.18	57	2.53	77	4.03	97	2.97
117	3.73	137	3.63	18	2.28	38	2.28	58	3.17	78	1.65	98	3.22
118	3.64	138	2.81	19	3.33	39	0.86	59	1.99	79	2.93	99	2.74

Annexe 10: Nombre de plants vivants ou persistance (PERSIST) des 154 génotypes à la fin de l'expérimentation, N°G. : Numéro de génotype, Moy. : Moyenne des 4 réplifications.

N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.
1	20.80	119	19.37	139	11.87	2	26.63	4	13.80	6	22.90	8	21.61
10	19.18	12	20.91	14	10.88	20	13.18	40	18.07	60	6.65	80	15.14
100	24.82	120	11.62	140	14.54	21	14.93	41	17.56	61	26.27	81	18.81
101	11.77	121	18.21	141	27.79	22	15.08	42	20.38	62	10.25	82	8.99
102	18.38	122	14.78	142	15.69	23	11.39	43	17.11	63	18.63	83	19.85
103	12.74	123	8.46	143	23.36	24	27.18	44	9.21	64	4.42	84	16.03
104	14.51	124	16.77	144	23.51	25	9.69	45	18.39	65	5.07	85	21.63
105	15.50	125	15.40	145	17.99	26	16.71	46	16.93	66	19.47	86	7.02
106	19.43	126	24.08	146	11.30	27	16.60	47	13.53	67	14.39	87	12.69
107	15.20	127	14.20	147	11.95	28	15.49	48	20.43	68	14.95	88	11.02
108	11.90	128	19.21	148	18.74	29	18.34	49	16.72	69	15.37	89	22.21
109	9.02	129	20.20	149	21.49	3	6.85	5	24.49	7	6.24	9	20.02
11	22.52	13	5.348	15	18.57	30	17.78	50	16.18	70	13.44	90	15.45
110	13.91	130	12.13	150	17.67	31	13.88	51	18.94	71	12.37	91	21.73
111	15.35	131	13.04	151	28.61	32	14.21	52	13.91	72	31.96	92	18.53
112	7.31	132	24.64	Erfoud 1	13.04	33	15.08	53	17.87	73	26.88	93	15.95
113	16.14	133	16.54	Mamuntanas	20.54	34	23.33	54	19.17	74	23.02	94	25.62
114	13.71	134	20.34	Sardi 10	10.34	35	17.27	55	24.46	75	4.79	95	19.11
115	15.65	135	13.23	16	12.69	36	14.36	56	9.983	76	18.92	96	21.17
116	19.12	136	17.07	17	18.73	37	15.00	57	15.96	77	20.19	97	13.44
117	15.73	137	15.72	18	15.86	38	15.49	58	13.44	78	4.20	98	19.30
118	17.71	138	12.22	19	15.42	39	9.44	59	11.68	79	21.10	99	25.59

Annexe 11: Hauteur hivernale végétative (WINHGT1) de la 1^{ère} année d'étude des 154 génotypes, N°G. : Numéro de génotype, Moy. : Moyenne des 4 réplifications.

N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.
1	45.67	119	50.33	139	49.27	2	44.63	4	43.80	6	42.41	8	44.69
10	47.25	12	39.74	14	44.54	20	54.35	40	48.96	60	41.02	80	47.01
100	43.67	120	49.76	140	45.93	21	38.87	41	46.29	61	49.28	81	46.96
101	47.21	121	52.98	141	41.35	22	48.17	42	39.25	62	46.98	82	51.16
102	51.00	122	45.39	142	38.84	23	41.72	43	43.53	63	43.92	83	43.72
103	46.65	123	47.08	143	45.30	24	48.92	44	45.19	64	44.94	84	46.33
104	48.02	124	46.96	144	43.76	25	50.87	45	40.25	65	41.33	85	51.30
105	49.02	125	48.81	145	52.29	26	41.95	46	46.34	66	40.34	86	39.68
106	39.51	126	48.02	146	52.01	27	48.25	47	40.68	67	53.47	87	45.72
107	45.58	127	44.71	147	50.45	28	48.88	48	47.02	68	39.38	88	43.89
108	41.50	128	50.56	148	45.08	29	46.90	49	42.09	69	51.08	89	41.16
109	47.11	129	48.66	149	43.33	3	47.70	5	50.36	7	50.08	9	42.30
11	43.81	13	45.67	15	45.86	30	45.82	50	41.96	70	37.74	90	41.59
110	49.65	130	42.68	150	47.67	31	46.39	51	43.89	71	44.53	91	45.64
111	50.24	131	46.75	151	45.55	32	43.14	52	52.99	72	39.23	92	46.68
112	37.46	132	40.88	Erfoud 1	43.77	33	41.87	53	45.97	73	46.88	93	46.15
113	45.22	133	46.36	Mamuntanas	39.35	34	51.16	54	48.74	74	41.95	94	46.49
114	45.70	134	44.25	Sardi 10	49.46	35	41.43	55	46.32	75	39.44	95	43.17
115	38.31	135	42.02	16	41.51	36	43.56	56	33.86	76	46.48	96	48.72
116	44.01	136	41.00	17	41.43	37	49.10	57	37.83	77	52.99	97	48.58
117	49.09	137	47.25	18	48.98	38	44.52	58	43.81	78	51.45	98	43.99
118	47.22	138	42.91	19	49.27	39	44.09	59	51.15	79	43.84	99	42.34

Annexe 12: Hauteur hivernale végétative (WINHGT2) de la 2^{ème} année d'étude des 154 géotypes, N°G. : Numéro de géotype, Moy. : Moyenne des 4 réplifications.

N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.
1	35.34	119	39.54	139	34.62	2	20.85	4	33.43	6	24.19	8	38.21
10	27.84	12	35.63	14	23.68	20	37.27	40	35.84	60	29.11	80	32.79
100	25.57	120	26.14	140	33.65	21	37.82	41	33.86	61	31.51	81	34.37
101	30.67	121	30.46	141	26.27	22	39.22	42	32.06	62	35.91	82	36.81
102	36.19	122	26.92	142	29.39	23	22.23	43	31.74	63	34.42	83	37.39
103	29.85	123	33.13	143	32.50	24	39.76	44	28.71	64	32.52	84	39.42
104	32.00	124	35.00	144	33.91	25	37.40	45	26.25	65	32.76	85	39.20
105	27.61	125	34.81	145	39.27	26	34.20	46	36.47	66	34.10	86	35.53
106	36.12	126	21.73	146	35.10	27	35.25	47	35.41	67	36.89	87	21.30
107	40.50	127	36.82	147	39.97	28	36.12	48	30.29	68	38.30	88	33.68
108	34.08	128	36.30	148	34.04	29	24.49	49	26.31	69	38.48	89	20.26
109	33.54	129	33.92	149	34.33	3	34.18	5	35.75	7	30.95	9	29.66
11	34.46	13	32.48	15	29.79	30	39.48	50	27.93	70	29.06	90	36.83
110	27.11	130	37.30	150	34.68	31	32.99	51	34.93	71	37.62	91	34.83
111	36.22	131	22.61	151	34.57	32	32.23	52	35.67	72	36.44	92	35.75
112	34.04	132	39.05	Erfoud 1	29.56	33	22.69	53	36.43	73	36.99	93	35.27
113	33.40	133	32.59	Mamuntanas	33.09	34	26.51	54	24.35	74	37.29	94	35.50
114	41.94	134	36.35	Sardi 10	26.69	35	33.90	55	42.25	75	26.06	95	38.15
115	34.07	135	33.59	16	30.37	36	32.25	56	40.09	76	33.46	96	29.60
116	33.19	136	27.94	17	33.30	37	37.75	57	33.22	77	34.63	97	32.81
117	38.03	137	34.92	18	38.19	38	35.18	58	27.29	78	35.45	98	29.84
118	38.33	138	28.35	19	39.03	39	33.48	59	35.70	79	28.04	99	18.46

Annexe 13: Hauteur hivernale végétative (WINHGT3) de la 3^{ème} année d'étude des 154 géotypes, N°G. : Numéro de géotype, Moy. : Moyenne des 4 réplifications.

N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.
1	32.67	119	27.25	139	33.28	2	28.20	4	25.36	6	35.24	8	31.87
10	30.70	12	36.63	14	38.56	20	35.18	40	38.88	60	26.92	80	30.17
100	29.95	120	35.62	140	28.84	21	34.67	41	34.94	61	28.27	81	35.40
101	34.76	121	33.41	141	38.13	22	30.33	42	33.38	62	31.01	82	38.29
102	32.47	122	31.62	142	31.11	23	29.79	43	34.87	63	32.23	83	31.55
103	33.67	123	26.69	143	35.17	24	38.58	44	30.23	64	30.03	84	31.41
104	36.29	124	31.92	144	29.21	25	28.49	45	26.67	65	31.97	85	37.86
105	30.13	125	32.67	145	37.07	26	35.22	46	33.48	66	34.32	86	33.00
106	31.06	126	34.18	146	33.79	27	35.01	47	33.26	67	29.25	87	31.53
107	39.14	127	34.42	147	35.37	28	40.81	48	37.83	68	36.16	88	32.00
108	32.73	128	37.85	148	27.67	29	36.92	49	34.30	69	37.12	89	34.05
109	27.18	129	30.77	149	29.71	3	33.04	5	32.24	7	34.54	9	32.88
11	35.79	13	27.68	15	43.58	30	33.81	50	37.33	70	32.51	90	37.05
110	32.38	130	34.59	150	32.74	31	36.66	51	35.76	71	31.57	91	32.51
111	35.22	131	32.81	151	41.36	32	30.71	52	30.04	72	39.04	92	37.53
112	28.59	132	37.11	Erfoud 1	34.51	33	31.20	53	36.35	73	30.99	93	36.83
113	35.07	133	28.08	Mamuntanas	32.65	34	33.05	54	32.35	74	32.72	94	30.66
114	38.65	134	39.44	Sardi 10	36.21	35	38.39	55	34.78	75	31.65	95	29.31
115	37.56	135	32.58	16	35.55	36	29.51	56	32.64	76	34.37	96	40.05
116	31.61	136	28.44	17	33.98	37	30.97	57	24.01	77	39.85	97	38.03
117	38.28	137	35.43	18	32.66	38	35.56	58	25.10	78	41.66	98	32.57
118	33.83	138	36.22	19	37.20	39	35.64	59	34.63	79	36.97	99	29.96

Annexe 14: Hauteur hivernale végétative moyenne (WINHGT) des 3 ans d'étude des 154 génotypes, N°G. : Numéro de génotype, Moy. : Moyenne des 4 réplifications.

N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.
1	38.28	119	39.11	139	38.84	2	28.01	4	34.14	6	36.39	8	38.16
10	35.15	12	37.34	14	33.43	20	43.35	40	41.26	60	34.00	80	37.67
100	33.95	120	37.45	140	36.03	21	37.13	41	38.65	61	36.51	81	38.81
101	37.42	121	39.21	141	35.25	22	40.14	42	35.03	62	39.19	82	42.14
102	39.88	122	34.57	142	32.90	23	31.12	43	36.46	63	36.66	83	37.23
103	37.26	123	35.73	143	37.30	24	42.67	44	35.03	64	37.10	84	39.32
104	38.54	124	37.95	144	35.57	25	38.69	45	30.73	65	34.99	85	42.34
105	36.19	125	38.86	145	43.10	26	37.12	46	39.13	66	36.40	86	36.10
106	35.24	126	34.77	146	40.54	27	39.98	47	36.66	67	40.00	87	30.44
107	41.59	127	38.73	147	42.29	28	42.03	48	38.40	68	37.90	88	36.66
108	36.45	128	41.01	148	35.28	29	35.91	49	34.58	69	42.05	89	31.64
109	37.60	129	37.47	149	35.90	3	38.61	5	39.80	7	38.20	9	34.95
11	37.90	13	36.00	15	39.84	30	39.73	50	35.90	70	33.54	90	38.90
110	36.59	130	38.22	150	38.42	31	37.40	51	37.86	71	37.98	91	37.59
111	40.48	131	34.36	151	39.47	32	34.62	52	39.54	72	38.64	92	40.51
112	33.87	132	39.20	Erfoud 1	35.65	33	32.05	53	39.31	73	40.07	93	39.65
113	38.10	133	42.12	Mamuntanas	35.34	34	36.95	54	35.44	74	37.13	94	37.46
114	41.30	134	39.97	Sardi 10	36.88	35	38.14	55	40.82	75	32.32	95	37.03
115	36.72	135	35.84	16	35.66	36	34.91	56	33.37	76	38.10	96	39.95
116	36.76	136	32.36	17	35.82	37	39.17	57	31.74	77	42.40	97	40.20
117	41.55	137	39.49	18	39.96	38	38.06	58	32.47	78	41.76	98	35.30
118	40.04	138	36.18	19	41.72	39	37.82	59	40.31	79	36.01	99	29.54

Annexe 15: Début de floraison (FLOW1) de la 1^{ère} année d'étude des 154 génotypes, N°G. : Numéro de génotype, Moy. : Moyenne des 4 réplifications

N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.
1	129.61	119	132.43	139	129.74	2	128.85	4	131.80	6	131.12	8	132.56
10	131.21	12	134.19	14	131.37	20	132.07	40	132.14	60	131.75	80	132.79
100	131.21	120	131.14	140	130.79	21	130.45	41	132.69	61	132.93	81	131.72
101	132.24	121	132.53	141	132.32	22	131.59	42	131.10	62	131.24	82	131.82
102	133.37	122	131.24	142	131.40	23	131.60	43	134.69	63	132.57	83	132.82
103	131.72	123	132.51	143	131.64	24	131.54	44	131.98	64	131.90	84	133.79
104	131.86	124	130.87	144	132.79	25	132.59	45	129.54	65	132.54	85	132.40
105	132.10	125	132.26	145	133.06	26	133.32	46	132.93	66	133.41	86	130.77
106	133.25	126	134.67	146	131.54	27	135.09	47	131.66	67	132.10	87	129.75
107	132.55	127	131.08	147	134.25	28	130.87	48	131.98	68	131.58	88	131.58
108	129.43	128	134.54	148	131.15	29	133.27	49	133.27	69	133.00	89	131.60
109	132.63	129	131.52	149	132.46	3	132.39	5	133.33	7	131.30	9	130.51
11	132.66	13	132.11	15	132.09	30	132.59	50	130.06	70	132.11	90	131.61
110	131.43	130	131.00	150	132.68	31	132.05	51	133.16	71	131.74	91	131.32
111	131.22	131	133.12	151	132.41	32	131.74	52	132.02	72	131.27	92	131.32
112	129.87	132	133.36	Erfoud 1	131.98	33	131.60	53	130.93	73	132.62	93	130.95
113	132.29	133	130.16	Mamuntanas	131.43	34	132.39	54	132.19	74	131.52	94	132.06
114	129.14	134	132.65	Sardi 10	131.03	35	127.91	55	133.04	75	132.57	95	132.36
115	132.68	135	132.57	16	132.17	36	132.44	56	133.84	76	131.76	96	133.25
116	134.41	136	132.33	17	131.35	37	131.05	57	133.19	77	129.44	97	131.16
117	132.05	137	134.35	18	131.84	38	134.05	58	130.13	78	131.83	98	130.22
118	133.33	138	132.53	19	131.42	39	132.24	59	133.73	79	131.45	99	131.18

Annexe 16: Début de floraison (FLOW2) de la 2^{ème} année d'étude des 154 géotypes, N°G. :
 Numéro de géotype, Moy. : Moyenne des 4 réplifications

N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.
1	134.80	119	134.27	139	134.87	2	135.19	4	134.64	6	134.75	8	133.69
10	133.23	12	134.08	14	134.99	20	136.69	40	133.32	60	135.27	80	134.27
100	133.40	120	135.31	140	136.93	21	133.32	41	132.61	61	135.61	81	135.76
101	135.94	121	133.49	141	133.73	22	135.92	42	133.82	62	134.32	82	133.82
102	135.30	122	134.49	142	133.49	23	136.46	43	136.47	63	134.59	83	134.48
103	134.65	123	134.57	143	134.52	24	136.62	44	134.95	64	134.78	84	135.31
104	135.50	124	133.49	144	135.58	25	134.73	45	134.11	65	134.20	85	133.94
105	133.57	125	133.17	145	134.47	26	135.39	46	134.40	66	132.92	86	132.14
106	133.34	126	135.34	146	133.57	27	134.44	47	134.19	67	134.97	87	135.19
107	133.75	127	133.35	147	134.87	28	134.22	48	134.91	68	133.22	88	135.70
108	135.56	128	133.93	148	132.79	29	132.88	49	133.96	69	132.01	89	133.33
109	134.31	129	133.64	149	134.43	3	132.75	5	134.62	7	133.57	9	135.77
11	134.28	13	135.53	15	133.25	30	134.08	50	135.21	70	132.75	90	136.12
110	133.38	130	133.57	150	134.10	31	135.59	51	135.69	71	134.62	91	134.29
111	132.56	131	135.28	151	133.14	32	134.66	52	135.29	72	133.93	92	136.05
112	133.87	132	133.13	Erfoud 1	134.24	33	134.34	53	135.18	73	134.23	93	133.63
113	134.60	133	136.42	Mamuntanas	134.22	34	135.70	54	133.79	74	134.61	94	133.55
114	134.71	134	135.39	Sardi 10	135.99	35	133.38	55	136.00	75	135.51	95	133.79
115	134.95	135	134.65	16	135.20	36	133.75	56	135.55	76	133.43	96	133.79
116	136.55	136	133.53	17	134.19	37	133.51	57	132.84	77	134.20	97	134.88
117	134.81	137	135.12	18	132.77	38	134.57	58	134.47	78	132.25	98	135.28
118	134.28	138	135.81	19	133.69	39	134.06	59	134.66	79	135.26	99	132.65

Annexe 17: Début de floraison (FLOW3) de la 3^{ème} année d'étude des 154 géotypes, N°G. :
 Numéro de géotype, Moy. : Moyenne des 4 réplifications

N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.
1	149.54	119	143.60	139	146.63	2	146.44	4	149.79	6	148.93	8	148.25
10	150.25	12	149.00	14	149.17	20	151.02	40	147.63	60	145.21	80	148.05
100	145.42	120	147.74	140	145.78	21	151.15	41	147.72	61	150.36	81	148.18
101	149.21	121	148.26	141	148.98	22	151.77	42	147.06	62	148.79	82	149.65
102	149.02	122	149.08	142	146.64	23	147.48	43	151.47	63	150.32	83	145.45
103	150.79	123	147.25	143	149.03	24	150.01	44	142.89	64	156.51	84	150.80
104	146.20	124	151.23	144	151.15	25	146.43	45	148.56	65	150.33	85	154.74
105	150.52	125	145.57	145	156.60	26	147.37	46	151.46	66	150.67	86	151.47
106	149.85	126	150.48	146	147.26	27	149.56	47	148.43	67	147.72	87	149.61
107	147.91	127	149.97	147	147.16	28	147.70	48	149.171	68	149.90	88	149.32
108	151.18	128	151.07	148	149.17	29	148.94	49	149.74	69	145.96	89	149.64
109	149.92	129	147.23	149	150.43	3	151.10	5	149.44	7	150.92	9	148.37
11	153.85	13	147.54	15	146.19	30	150.77	50	146.86	70	146.98	90	150.92
110	145.50	130	149.46	150	147.85	31	141.88	51	150.83	71	144.40	91	148.81
111	147.56	131	150.31	151	145.46	32	147.84	52	149.44	72	149.20	92	150.21
112	151.80	132	145.62	Erfoud 1	148.96	33	150.25	53	146.21	73	146.56	93	149.09
113	153.31	133	149.31	Mamuntanas	152.84	34	157.33	54	147.48	74	149.84	94	149.45
114	148.46	134	150.09	Sardi 10	148.90	35	148.69	55	145.48	75	148.32	95	150.77
115	147.49	135	146.54	16	146.72	36	150.00	56	150.20	76	144.23	96	149.62
116	150.49	136	150.04	17	147.54	37	149.52	57	148.24	77	148.99	97	144.78
117	148.92	137	151.37	18	150.76	38	150.02	58	151.02	78	149.01	98	143.53
118	152.86	138	147.98	19	150.48	39	152.39	59	151.42	79	151.90	99	148.93

Annexe 18: Début de floraison moyen (FLOW) des 3 années d'étude des 154 génotypes,
N°G. : Numéro de génotype, Moy. : Moyenne des 4 réplifications

N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.
1	141.13	119	134.51	139	140.74	2	127.94	4	137.26	6	119.26	8	137.46
10	136.66	12	137.44	14	139.37	20	144.66	40	135.73	60	143.01	80	127.44
100	126.74	120	136.78	140	146.56	21	143.61	41	135.54	61	139.73	81	139.49
101	127.01	121	141.54	141	138.71	22	127.55	42	126.62	62	137.08	82	139.43
102	139.26	122	127.04	142	135.92	23	142.53	43	136.84	63	128.06	83	134.60
103	136.13	123	136.62	143	134.25	24	141.01	44	109.96	64	138.61	84	144.17
104	124.69	124	139.34	144	135.25	25	125.57	45	136.72	65	136.83	85	137.94
105	126.40	125	135.86	145	132.50	26	137.57	46	143.39	66	130.21	86	135.81
106	139.23	126	137.19	146	137.53	27	139.58	47	140.33	67	134.56	87	135.48
107	134.53	127	125.05	147	140.51	28	135.60	48	127.61	68	145.31	88	125.97
108	136.48	128	136.12	148	123.32	29	135.48	49	139.24	69	136.11	89	137.24
109	125.54	129	133.51	149	126.57	3	126.63	5	142.50	7	134.58	9	129.38
11	138.63	13	114.84	15	135.72	30	138.53	50	139.45	70	135.77	90	140.42
110	134.26	130	139.46	150	137.87	31	123.90	51	144.27	71	140.77	91	136.08
111	134.48	131	137.59	151	140.00	32	134.51	52	123.95	72	130.60	92	140.12
112	136.76	132	135.03	Erfoud 1	140.74	33	136.58	53	139.98	73	138.95	93	137.02
113	140.66	133	136.72	Mamuntanas	139.37	34	138.86	54	116.87	74	125.19	94	135.15
114	133.41	134	136.47	Sardi 10	146.56	35	135.74	55	137.16	75	137.71	95	137.54
115	126.90	135	136.47	16	138.71	36	137.83	56	108.04	76	138.14	96	141.66
116	130.57	136	136.49	17	135.92	37	135.02	57	135.96	77	116.22	97	134.71
117	138.24	137	139.77	18	134.25	38	136.39	58	138.70	78	115.95	98	124.33
118	137.44	138	128.51	19	135.25	39	137.15	59	136.13	79	119.26	99	114.95

Annexe 19: Début de floraison moyen (FLOW 1-2) des 2 années d'étude des 154 génotypes,
N°G. : Numéro de génotype, Moy. : Moyenne des 4 répétitions

N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.	N°G.	Moy.
1	134.3	119	133.2	139	131.7	2	116.6	4	133.2	6	132.4	8	133.1
10	131.9	12	133.5	14	133.3	20	134.1	40	132.7	60	133.3	80	133.5
100	131.9	120	133.3	140	133.9	21	131.9	41	132.6	61	134.3	81	133.7
101	134.1	121	133.0	141	132.7	22	133.7	42	132.1	62	134.8	82	132.6
102	134.3	122	132.9	142	132.5	23	133.7	43	134.8	63	133.7	83	133.3
103	132.9	123	133.5	143	132.5	24	134.1	44	133.5	64	133.1	84	136.6
104	133.6	124	131.9	144	134.2	25	133.3	45	131.8	65	133.1	85	133.2
105	132.8	125	132.7	145	133.8	26	134.4	46	135.7	66	133.2	86	131.2
106	132.9	126	135.0	146	132.6	27	134.7	47	133.0	67	133.3	87	132.5
107	133.1	127	131.8	147	134.7	28	132.6	48	133.5	68	132.1	88	133.3
108	132.6	128	134.1	148	131.7	29	133.1	49	133.5	69	132.6	89	132.5
109	133.5	129	132.4	149	133.1	3	132.6	5	136.0	7	131.9	9	135.2
11	133.1	13	133.9	15	132.6	30	133.1	50	132.6	70	132.4	90	133.9
110	132.5	130	131.6	150	133.4	31	133.8	51	134.6	71	133.2	91	132.8
111	131.9	131	133.9	151	132.8	32	132.8	52	133.3	72	132.6	92	133.8
112	131.9	132	133.3	Erfoud 1	132.8	33	132.9	53	132.9	73	133.4	93	132.3
113	133.1	133	133.1	Mamuntanas	132.5	34	133.9	54	133.1	74	133.4	94	132.5
114	132.0	134	133.6	Sardi 10	132.9	35	130.7	55	134.2	75	136.8	95	133.0
115	133.5	135	133.7	16	135.3	36	133.2	56	134.6	76	132.6	96	133.6
116	135.1	136	132.6	17	132.6	37	132.0	57	132.8	77	131.6	97	133.0
117	133.1	137	134.8	18	132.3	38	133.9	58	132.0	78	132.1	98	132.9
118	133.7	138	134.2	19	132.2	39	133.1	59	133.5	79	133.1	99	112.6

Résumé

La production fourragère en Algérie est en déficit chronique, ce qui engendre des importations de plus en plus coûteuses de poudre de lait et d'aliments de bétails. Pour atténuer la dépendance, la culture de la luzerne pérenne considérée reine des fourrages depuis des millénaires pourrait être une solution. Cette thèse rentre dans le cadre de deux projets complémentaires (PERMED et REFORMA). Afin de déterminer les cultivars de luzernes les plus performants en stabilité et rendement (Projet PERMED), un essai multi-environnements a été mené sur 16 cultivars méditerranéens pendant 4 années consécutives dans deux sites ; Alger et Hmadna ; avec deux conditions hydriques différentes à savoir irrigué et pluvial. Deux modèles statistiques AMMI et GGE ont été appliqués à l'ensemble de données pour étudier l'interaction génotype X environnement (GEI). La variété américaine « Ameristand 801S » et le cultivar marocain « Erfoud 1 » étaient les cultivars les plus tolérants au sel. Les deux modèles statistiques ont montré que le cultivar italien « Ecotipo Sicilien » était le plus stable, tandis que le moins stable était le cultivar algérien « Tamantit ». A partir de trois cultivars résistants à la sécheresse et/ou à la salinité ; issus du projet PERMED (Mamuntanas, Sardi 10, Erfoud 1), une population parentale tolérante à la sécheresse a été créée dans le cadre du projet REFORMA. En effet, il a été étudié le comportement de 151 familles (demi-frères) de luzerne issues du croisement des 3 cultivars. Les caractères suivis durant 3 ans sont : le rendement total en matière sèche, la hauteur végétative hivernale, la floraison, et la persistance. Une quinzaine de génotypes à haut rendement et bonne persistance ont été choisis, afin de produire la semence synthétique 1 (Syn 1). L'approche GWAS a été appliquée sur les 151 familles étudiés, afin de visualiser les associations entre les marqueurs SNP et les trois caractères phénotypiquement significatifs, à savoir ; le rendement total en matière sèche, la hauteur végétative hivernale et la floraison. L'analyse GWAS a révélé 4 SNP associés au rendement en matière sèche, 6 SNP associés à la hauteur hivernale et 9 SNP associés à la floraison.

Mots clés : *Medicago sativa* L., Rendement en matière sèche, Modèle AMMI, Modèle GGE, Interaction génotype X environnement, semence synthétique, GWAS, SNP.

Abstract

Fodder production in Algeria is in chronic deficit, which leads to expensive imports of powdered milk and livestock feed. To mitigate this dependency, we suggest the cultivation of perennial alfalfa considered the queen of fodder for millennia. This thesis is a part of two projects PERMED and REFORMA. To determine the best performing alfalfa cultivars in terms of stability and yield (PERMED), a multi-environment trial was carried out with 16 Mediterranean cultivars for 4 years in two sites; Algiers and Hmadna; each with two different conditions; irrigated and rainfed. Two statistical models AMMI and GGE are applied to the dataset to study the genotype X environment interaction (GEI). The American variety “Ameristand 801S” and the Moroccan cultivar “Erfoud 1” were the most salt-tolerant cultivars. The two statistical models showed that the Italian cultivar “Ecotipo Sicilien” was the most stable whatever the conditions, while the less stable was the Algerian cultivar “Tamantit”. From the 3 cultivars (Mamuntanas, Sardi 10, Erfoud 1) selected by the PERMED project, drought-tolerant parental population was created. (REFORMA project) In fact, the crossing of the three cultivars resistant to drought and/or salinity generated 151 families (half-siblings) that were evaluated over 3 years on total dry matter yield, winter vegetative height, flowering, and persistence. Fifteen high-yielding and persistent genotypes were chosen to produce the synthetic seed Syn 1. The GWAS approach was applied to the studied genotypes, to visualize the associations between the SNP markers and the three phenotypically significant characters (total dry matter yield, winter vegetative height, and flowering). GWAS analysis revealed 4 SNP associated with dry matter yield, 6 SNP associated with winter height, and 9 SNP associated with flowering.

Keywords: *Medicago sativa* L., dry matter yield, AMMI Model, GGE Model, genotype-environment interaction, synthetic seed, GWAS, SNP.

ملخص

يعاني إنتاج الأعلاف في الجزائر من عجز مزمن، ما أدى إلى ارتفاع استيرادها رفقة الحليب المجفف؛ و كحل ناجع لهذه الأزمة نقترح زراعة الفصة المعمرة (البرسيم المعمر) التي تعتبر ملكة الأعلاف منذ آلاف السنين. تتضمن هذه الأطروحة مشروعين متكاملين: « PERMED », « REFORMA ».

لغرض تحديد أفضل أداء لنوع الفصة المعمرة من حيث الاستقرار و المحصول (PERMED) ، تم إجراء تجربة متعددة البيئات باستخدام 16 نوع لمدة 4 سنوات متتالية، و ذلك في موقعين (الجزائر العاصمة و حمادنة) تحت نظامين مختلفين مروي و بعلي. و قد تم تحليل البيانات باعتماد نموذجين إحصائيين (AMMI) و (GGE) من أجل دراسة تفاعل نوع البيئة مع النمط الوراثي (GEI). وجدنا أن النوع الأمريكي «Ameristand 801S» و المغربي « Erfoud 1 » هم أكثر الأنواع تحملا للملوحة، إلى جانب ذلك أظهر النموذجان الإحصائيان أن النوع الإيطالي « Ecotipo Sicilien » كان الأكثر استقرارا مهما كانت الظروف، بينما النوع الجزائري « Tamantit » هو الأقل استقرارا.

انطلاقا من تهجين 3 أنواع مقاومة للجفاف و/ أو الملوحة (Mamuntanas X Sardi 10 X Erfoud 1)، و التي تم اختيارها من مشروع PERMED. تم إنشاء مجموعة متنوعة من الفصة المعمرة المحتملة للجفاف؛ في إطار مشروع « REFORMA ». أين تمت دراسة 151 نمط وراثي من الفصة المعمرة. بينما تتمثل المميزات التي تم قياسها على مدى 3 سنوات في: إجمالي محصول المادة الجافة، الطول الشتوي، الإزهار و التعمير. بحيث تم اختيار 15 سلالة عالية المحصول و التعمير من أجل إنتاج بذور الجيل الأول Syn 1.

كذلك تم تطبيق تحليل GWAS على الأنماط المدروسة من أجل اكتشاف الارتباطات بين علامات SNP و المميزات الظاهرية (إجمالي المحصول للمادة الجافة، الطول الشتوي و الإزهار)؛ بحيث كشف GWAS عن 4 SNP مرتبطة بمحصول المادة الجافة، 6 مرتبطة بالطول الشتوي و 9 مرتبطة بالإزهار.

الكلمات المفتاحية: *Medicago Sativa L.*، محصول المادة الجافة، نموذج AMMI، نموذج GGE، تفاعل بيئة- نمط وراثي ، بذور تركيبة ، SNP ، GWAS

Adaptation patterns of sixteen alfalfa (*Medicago sativa* L.) cultivars across contrasting environments of Algeria and implications for the crop improvement

Chahira Achir,¹ Paolo Annicchiarico,² Luciano Pecetti,² Houssef-Eddine Khelifi,¹ Mahfoud M'Hammedi-Bouzina,³ Aissa Abdelguerfi,⁴ Meriem Laouar¹

¹Laboratory of Integrative Improvement of Vegetal Productions, Higher National Agronomic School (ENSA), Algiers, Algeria; ²Council for Agricultural Research and Economics (CREA), Research Centre for Animal Production and Aquaculture, Lodi, Italy; ³Laboratory of Local Natural Bio-Resources, University Hassiba Benbouali of Chlef, Chlef, Algeria; ⁴Cité des Annassers, Algiers, Algeria

Abstract

The additive main effects and multiplicative interaction analysis was applied to assess the genotype × environment interaction (GEI) effects and stability for 4-year dry matter yield (DMY) of 16 alfalfa (*Medicago sativa* L.) cultivars of diversified geographic origin grown in four Algerian environments given by the combination of two water managements (rainfed and irrigated) and two evaluation sites, viz. the sub-humid location of Alger and the semi-arid, salinity-affected site of Hmadna. The analysis of variance (ANOVA) revealed significant variation among cultivars and environments ($P < 0.001$). The GEI was significant ($P < 0.001$) and the environment main effect had greater influence than the genotype effect on long-term yield according to ANOVA. Rainfed con-

ditions had 41.6% and 48.5% lower yield than the irrigated ones in Alger and Hmadna, respectively. Alfalfa cropping in the semi-arid location caused lower DMY than in the sub-humid one (−38.0% under irrigated and −45.2% under rainfed conditions) and a slightly lower persistence over the 4-year period. Outstanding environment-specific cultivar responses were observed, fully justifying the large GEI effects, although the Italian cultivar Sicilian ecotype had remarkable yield stability and good mean yield. The American variety Ameristand 801S and the Moroccan landrace Erfoud 1 were the most salt-tolerant cultivars. The evaluated germplasm, and particularly some exotic cultivars, could be used as parents to breed new varieties more adapted to drought and salinity in the Mediterranean basin.

Correspondence: Chahira Achir and Meriem Laouar, ENSA, Avenue Hassan Badi, El Harrach 16004, Algiers, Algeria.
E-mail: chahira.achir@gmail.com; m.laouar@ensa.dz

Key words: AMMI analysis; drought tolerance, dry matter yield; genotype x environment interaction; *Medicago sativa* L.; yield stability.

Acknowledgements: our thanks are extended to the EU-funded project PERMED (Improvement of native perennial forage plants for sustainability of Mediterranean farming systems) (INCO-CT-2004-08, PL509140), and to all people who participated during the execution of the experiment, both for management of the trials and data collection.

Contributions: PA, LP and AA, designed the study and the experiments. HK, MMB, AA and ML, collected the data. CA, PA and ML, carried out the statistical analysis and interpretation of results. CA, wrote the manuscript. LP, PA and ML, collaborated on the final drafting of the manuscript.

Received for publication: 11 December 2019.

Revision received: 18 February 2020.

Accepted for publication: 18 February 2020.

©Copyright: the Author(s), 2020

Licensee PAGEPress, Italy

Italian Journal of Agronomy 2020; 15:1578

doi:10.4081/ija.2020.1578

This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License (by-nc 4.0) which permits any non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited.

Introduction

The predicted greater incidence of drought caused by climate change (Alessandri *et al.*, 2014) will affect the productivity of crop-livestock systems in the Mediterranean region (Volaire *et al.*, 2014), where drought during late spring and summer is the prominent stress (Annicchiarico *et al.*, 2011). Drought is considered the main cause of low crop yields in Algeria (Bellague *et al.*, 2016). In addition to water deficit, salinisation is also frequent in Mediterranean environments (Fagnano and Maggio, 2018), owing to the presence of naturally saline soils (Small, 2010) or to irrigation with saline water (Pecetti *et al.*, 2013), with important impacts on the economy of affected countries.

Alfalfa (*Medicago sativa* L.) is the world's most important forage crop and it is the main perennial forage legume in most temperate regions (Annicchiarico *et al.*, 2015). It is an energy-efficient, environmentally-friendly crop, owing to its biological nitrogen fixation and the subsequent reduction in nitrogen application that it enables (Ballesta and Lloveras, 2010). The adoption of alfalfa as a forage crop could improve the economic and environmental sustainability of crop-livestock systems in the Mediterranean basin (Annicchiarico *et al.*, 2011). Despite the potential of alfalfa, its growing area in Algeria is still limited compared to other crops (Chedjerat *et al.*, 2016).

Alfalfa can extend the forage production into early summer and autumn in dry-land Mediterranean environments (del Pozo *et al.*, 2017), although drought and temperature extremes are the most important limitations during the growing season (Abdelguerfi and Laouar, 2002). Variation does exist in the species, though, for adaptation to either low or high temperatures (Annicchiarico *et al.*, 2015) as well as to drought, thanks to mor-

pho-physiological mechanisms (Annicchiarico *et al.*, 2013, 2015). Although rated as moderately susceptible to salinity (Pecetti *et al.*, 2013), alfalfa is often challenged by the saline stress in dry Mediterranean areas (Chedjerat *et al.*, 2016). Variation can be found for tolerance to this stress during the germination stage (Benabderrahim *et al.*, 2011).

Alfalfa breeding and variety recommendation should therefore be primarily driven by the prevailing environmental conditions of the target area(s). The additive main effects and multiplicative interaction (AMMI) and Genotype main effects and genotype \times environment interaction (GGE) are the most used models for statistical analyses in yield trials where several genotypes are typically tested in various environments (Gauch *et al.*, 2008). The AMMI model subdivides the overall variation into genotype (G) main effects, environment (E) main effects, and genotype \times environment interaction (GEI) effects, thus considering separately those three sources of variation (Gauch, 2006; Gauch *et al.*, 2008). This is particularly relevant in plant breeding programmes where GEI is a substantial component to deal with (Barrios *et al.*, 2017). Because of the importance of GEI, genotypes must be assessed in multi-environment trials to choose the best one(s) to use as new cultivar(s) or as breeding material (Annicchiarico, 2002).

The need to provide drought- and salt-tolerant germplasm to cope with the growing challenges that the crop is facing in North Africa, and the ultimate aim of increasing the alfalfa cropping area in Algeria, suggested undertaking the present study. We assessed the GEI effects of 16 alfalfa cultivars and analysed their adaptation in terms of forage yield to contrasting environments of Algeria, with the purpose of defining elite germplasm for future breeding of stress-tolerant varieties targeted to Mediterranean environments.

Materials and methods

Experimental data

Sixteen alfalfa cultivars, including landraces and varieties of different geographic origin such as Europe, North Africa, USA and Australia (Table 1), were evaluated in two locations in Algeria (Alger and Hmadna) under two water managements, namely, rainfed conditions and under sprinkler irrigation with water withheld in summer for nine weeks (Table 2). The main climatic and soil characteristics of the two locations are reported in Table 2. Although lying at a similar altitude of about 50 m above sea level, Alger features a sub-humid Mediterranean climate, whereas Hmadna is characterised by a semi-arid climate. In addition, Hmadna showed high soil electrical conductivity (5.2 to 6 dS m⁻¹) compared to Alger (1.9 dS m⁻¹).

Each combination of location and water management (termed as *environment*) was arranged in a randomised complete block design with four replications. The elementary plot area was 5 m² (2 m \times 2.5 m), including 10 rows with 20 cm spacing. Hand-sowing was carried out at the end of November 2004 with a seed rate of 25 kg ha⁻¹, after a fertilisation with 92 kg ha⁻¹ of P₂O₅.

A harvest area of 2.4 m² including the six central rows of 2 m length, was mown to a height of 5 cm from the ground in each plot when 75% of the overall plants in the trial reached a height of 30 to 35 cm in the winter season, or after onset of flowering of 75% of the cultivars in the spring season. The dry matter yield (DMY) was obtained after oven-drying at 80°C for 48 h the aerial biomass from the harvested area. The cumulated DMY was computed over four years of evaluation from November 2004 to July 2008.

Statistical analysis

A combined analysis of variance (ANOVA) was carried out to assess GEI and stability of the cultivars across environments and the least significant difference (LSD) at P=0.05 was computed to compare the total dry-matter yield among the sixteen cultivars. The AMMI model was applied to study the patterns of GEI and to graphically display means, adaptation and stability of alfalfa cultivars across environments. The AMMI model, which combines standard analysis of variance with PC analysis (Zobel *et al.*, 1988), is a very effective method for investigating GEI. In the AMMI model, the contribution of each cultivar and each environment to the GEI was assessed by using the biplot graph display, in which yield means were plotted against the scores of the interaction principal component 1 (PCA1) (Zobel *et al.*, 1988). The AMMI model was:

$$Y_{ge} = \mu + \alpha_g + \beta_e + \sum \lambda_n \zeta_{gn} \eta_{en} + \theta_{ge} \quad (1)$$

where Y_{ge} , is the yield of genotype (g) in environment (e); μ is the grand mean; α_g is the genotype mean deviation; β_e is the environment mean deviation; λ_n is the eigenvalue of the PCA axis (n); ζ_{gn} and η_{en} are the genotype and environment PCA scores for the PCA axis (n); and θ_{ge} is the residual.

Biplot analysis is the most powerful interpretative tool of the AMMI model, where aspects of both genotypes and environments are plotted on the same axis, so that the inter-relationships can be visualised. Thus, Gauch *et al.* (2008) suggested that the AMMI-1 display of genotype nominal yields describes winning genotypes and adaptive responses simply and clearly.

Purchase *et al.* (2000) developed an approach called the AMMI stability value (ASV) and considered it as the most appropriate procedure to describe the stability of a genotype, which is based on the first (IPCA1) and second (IPCA2) interaction principal component axis scores of the AMMI model for each genotype. The

Table 1. Code, names, country of origin and target environments of sixteen alfalfa cultivars evaluated in four environments of Algeria.

Cultivar	Origin	Target environment/ Selection purpose
Sicilian ecotype	Sicily (Italy)	Rainfed conditions
Prosementi	Northern Italy	Moderately favourable conditions
ABT 805	Southeast USA	Grazing tolerance
Ameristand 801S	Southwest USA	Salt tolerance
Mamuntanas	Sardinia (Italy)	Rainfed conditions
Tamantit	Southern Algeria	Irrigated areas (oasian)
Sardi 10	Southern Australia	Mild-winter conditions
Siriver	Southern Australia	Aphid tolerance, high-rainfall area
Africaine	Morocco	Irrigated areas
Gabès 2355	Tunisia	Irrigated areas (oasian)
Magali	Southern France	Temperate conditions
Melissa	Southern France	Mild-winter conditions
Coussouls	France	Grazing tolerance
Rich 2	Morocco	Irrigated areas (oasian)
Erfoud 1	Morocco	Irrigated areas, salt tolerance
Demnat 203	Morocco	Irrigated areas (oasian)

ASV is the distance from the origin to the genotype coordinate point in a two-dimensional plot of IPCA1 scores against IPCA2 scores. Genotypes with lowest ASV values have the shortest projection from the biplot origin and are considered as the most stable ones. ASV was computed as:

$$ASV = \sqrt{\left[\frac{SS_{IPCA1}}{SS_{IPCA2}} (IPCA1score) \right]^2 + (IPCA2score)^2} \quad (2)$$

where $\frac{SS_{IPCA1}}{SS_{IPCA2}}$ is the weight given to the IPCA1 value by dividing the IPCA1 sum of squares by the IPCA2 sum of squares; and the IPCA1 and IPCA2 scores are the genotypic scores in the AMMI model. The statistical analyses were performed using the R package 'Agricolae' (software version 3.5.1) for AMMI analysis and ASV scores, and PTools software (version 1.4) for the AMMI Biplot graph.

Results

Crop persistence was acceptable after four years of growth in three environments out of four, with a proportion of the fourth-year DMY to total DMY about equal to, or greater than, 25% (Table 2). Only under rainfed conditions in Hmadna was the proportion equal to 15%. Rainfed conditions resulted in 41.6% and 48.5% lower yield than irrigated ones in Alger and Hmadna, respectively. The sub-humid location of Alger showed a much higher forage yield

potential than the semi-arid location of Hmadna irrespective of the water management. Yield in Hmadna was 38.0% and 45.2% lower than in Alger under irrigated and rainfed conditions, respectively. Providing even a summer-withheld irrigation in Alger remarkably increased the forage yield potential of alfalfa in this location compared to rainfed conditions. At the opposite extreme, the combination of severe drought and high salinity stress substantially limited the yield potential in the Hmadna-rainfed environment (Table 2).

The ANOVA revealed highly significant variation ($P < 0.001$) among cultivars and among environments for total DMY, as well as a significant GEI ($P < 0.001$). The AMMI model showed that the mean square for the PC1 axis was over 3-fold higher than the mean square for the residual, while the PC1 axis accounted for 72.3% of the interaction sum of squares (SS), and the residual for the remaining 27.7%. These values indicated that the AMMI model was very effective in summarising the interaction. The environment SS was 10 times larger than the genotype SS, and 16 times larger than the GEI SS, while the genotype SS was 1.5 times larger than the GEI SS. Only the first principal component PC1 was significant (data not reported), and the relative AMMI-1 biplot, which accounted for 70.7% of GEI variation, was displayed in Figure 1. Modeled adaptive responses were shown as cultivar nominal yields, that is, expected responses from which the environment main effect, with no influence on cultivar ranking, was subtracted (Annicchiarico *et al.*, 2011). Outstanding cross-over interactions among top-yielding cultivars occurred across contrasting environments. The American cultivar Ameristand 801S was top-yielding in Hmadna-irrigated (lowest environment PC1 score) and the Italian cultivar Mamuntanas in Alger-irrigated (highest PC1 score; Figure 1).

Table 2. Geographic, climatic and soil information of the two test locations, and water management, mean annual irrigation, total dry matter yield (DMY) over a four-year crop cycle of sixteen alfalfa cultivars, and proportion of the fourth-year DMY to total DMY, of four test environments in the two locations.

Location (Area)	Alger (Coastal Algeria)		Hmadna (Inland Algeria)	
Geographic position	Mitidja plain		Lower-Cheliff plain	
Altitude (m a.s.l.)	50		48	
Latitude	36°45' N		35°54' N	
Longitude	3°14' E		0°46' E	
Climate	Mediterranean sub-humid		Mediterranean semi-arid	
Minimum and maximum of annual rainfall during the trials (mm)	610 to 750		227 to 337	
Annual average of minimum and maximum daily temperature (°C)	5.3-31.6		9.2-30.7	
Average daily maximum temperatures (°C) in summer (June-August)	35.1		37.6	
Soil texture	Loamy clay		Loamy clay	
Soil pH (H ₂ O)	7.70		7.97	
Environment name	Alger-irrigated	Alger-rainfed	Hmadna-irrigated	Hmadna-rainfed
Environment code	E1	E2	E3	E4
Water management	Withheld irrigation ^a	Rainfed	Withheld irrigation ^a	Rainfed
Annual irrigation (mm)	150	-	245	-
Mean annual water available (mm) (rainfall + irrigation)	862	712	528	283
Mean April-September water (mm)	286	136	357	113
Soil electrical conductivity ^b (EC) dS m ⁻¹	1.90	1.90	6.00	5.20
Number of cuts over the 4-year period	19	11	18	12
Total DMY (t ha ⁻¹)	43.25	25.24	26.82	13.82
Fourth year/total DMY proportion	0.30	0.24	0.24	0.15

^aIn summer (for nine weeks); ^bOn 0-30 cm soil samples.

In fact, Ameristand 801S and Mamuntanas had highest yield in Hmadna and Alger location, respectively, regardless of the water management. Exotic cultivars generally had a positive response towards more favourable environments (Alger location), whereas North-African landraces tended to better response at low environment PC1 score (Hmadna location). The response of Erfoud 1 was particularly interesting, suggesting a specific adaptation pattern to this salt-stressed location of Hmadna (Figure 1). The Algerian cultivar Tamantit was more productive in the Hmadna-irrigated environment than in the other environments. This cultivar originated from an oasis with arid climate and high salinity and showed full intolerance to the sub-humid climate of Alger (Figure 1). The Italian cultivar Sicilian ecotype tended to a stable and relatively high yield across all environments, while the French cultivar Magali was rather stable but with intermediate yield levels. Prosementi, selected for moderately-favorable conditions of northern Italy, was characterised by medium to poor adaptation across environments (Figure 1).

The recorded 4-year total DMY of the cultivars ranged from 19.49 t ha⁻¹ for Tamantit to 31.64 t ha⁻¹ for Ameristand 801S, with an average of 27.28 t ha⁻¹ (Table 3). The four top-ranking cultivars (exceeding 30 t ha⁻¹) were all exotic cultivars, while the four bottom-ranking ones (<25 t ha⁻¹) were all North-African landraces (Table 3).

The remarkable stability in the presence of a good forage yield, previously noticed for Sicilian ecotype in the graphical representation of the AMMI analysis, was also confirmed by the

Table 3. Mean total dry-matter yield of 16 alfalfa cultivars across four environments of evaluation, and additive main effects and multiplicative interaction stability value.

Cultivar	DMY (t ha ⁻¹)	ASV
Sicilian ecotype	30.63 ^{abc}	0.87
Magali	27.92 ^{cde}	0.95
Gabès 2355	24.89 ^{fg}	1.13
Siriver	28.27 ^{cde}	1.14
Melissa	27.46 ^{def}	1.16
Sardi 10	30.01 ^{abcd}	1.44
Prosementi	26.29 ^{ef}	1.54
Africaine	22.01 ^{hi}	1.55
Erfoud 1	28.42 ^{cde}	1.65
Rich 2	26.68 ^{ef}	1.72
Coussouls	28.48 ^{bcd}	1.93
Demnat 203	23.43 ^{gh}	2.14
ABT 805	29.54 ^{abcd}	2.16
Ameristand 801S	31.64 ^a	2.18
Mamuntanas	31.31 ^{ab}	2.96
Tamantit	19.49 ⁱ	5.49
LSD (P=0.05)	2.85	-

DMY, dry-matter yield; ASV, additive main effects and multiplicative interaction stability value; LSD, least significant difference test. ^{a-i}Mean total DMY values followed by different letters were different according to the least significant difference (LSD) at P=0.05.

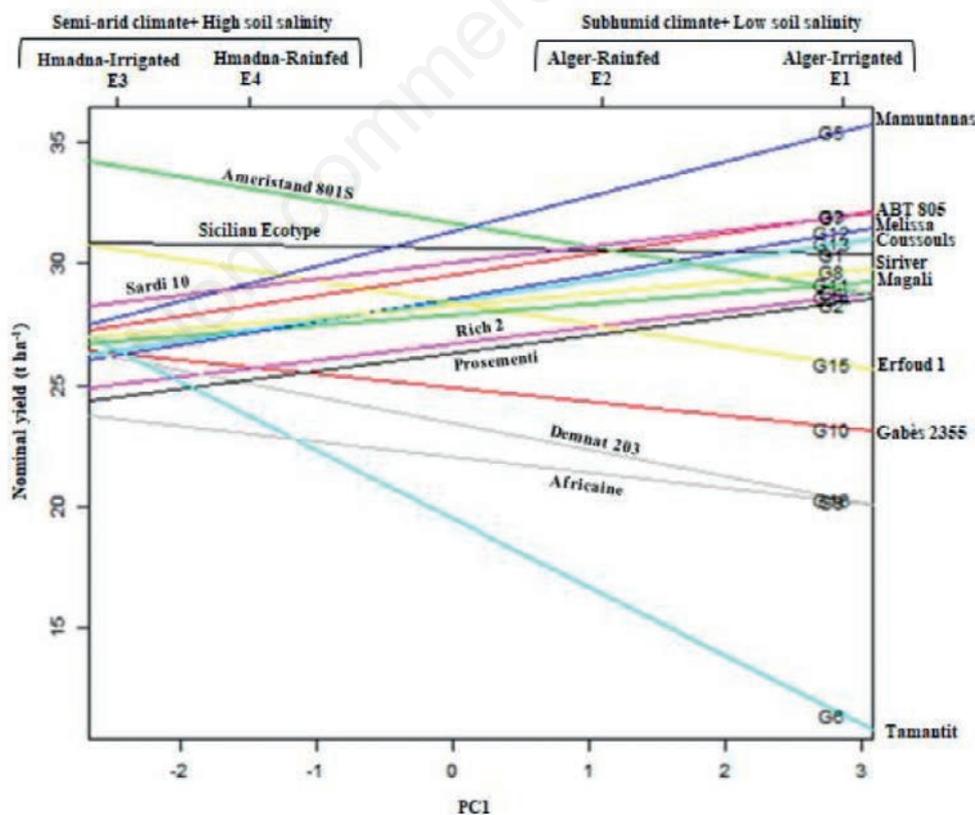


Figure 1. Nominal four-year dry matter yield of 16 alfalfa cultivars as a function of the environment score on the first genotype × environment interaction (GEI) principal component (PC1) axis (PC1=70.7% of total GEI variation).

ASV score and mean DMY of this cultivar across environments (Table 3). The ASV score also confirmed the great responsiveness (that is, little stability) of Mamuntanas and Ameristand 801S in their respective environment of adaptation (Figure 1), and the marked instability of Tamantit because of its mentioned failure in the sub-humid location of Alger. Other cultivars showing low ASV score, such as Magali and Gabès 2355 (Table 3) were characterised by intermediate performance across environments (Figure 1).

Discussion

A 42% yield reduction in rainfed cropping compared to irrigated trials was observed by Annicchiarico *et al.* (2011) who tested the same set of cultivars across several environments. The present results from Alger confirmed this more general trend, while a somehow greater reduction was observed in the semi-arid, salinity-prone location of Hmadna. The salinity level recorded in this location largely exceeded the threshold value for yield decrease estimated in 2.0 dS m^{-1} in alfalfa (Grieve *et al.*, 2012) and the salinity stress exacerbated the drought effects. Salinity effects in cool and humid weather are more tolerable by plants than in hot or dry weather (Peveřill *et al.*, 1999).

Bouizgaren *et al.* (2013) also evaluated the same set of cultivars in a semi-arid region of Morocco, comparing the yield under a summer-withheld irrigation (water management similar to the present one) versus the yield under continuous irrigation (oasis treatment), and reported a yield reduction ranging between 23.9% and 42.6% with withheld irrigation. Further investigations could possibly help assessing whether the least reduction levels in forage yield caused by withholding the summer irrigation in alfalfa could be paid back using the saved irrigation water in summer for other crops with higher added value (*e.g.*, orchards or vegetables). Reducing or withholding irrigation during the period of lowest water-use efficiency (summer months) might be an important solution for water conservation, provided that suitable stress-tolerant germplasm is identified.

The present adaptation patterns were consistent with previous results. Pecetti *et al.* (2013) highlighted the high salt tolerance of both Ameristand 801S and Erfoud 1 and suggested that the North-African landraces could be interesting salt-tolerant genetic resources. Landraces or varieties selected under rainfed conditions in southern Europe, USA and Australia could be sources of drought tolerance (Pecetti *et al.*, 2008; Annicchiarico *et al.*, 2013), such as Sicilian ecotype, which evolved under rainfed cropping and moderate annual rainfall. Studies carried out in south Tunisia also indicated a possible yield advantage of exotic cultivars over local germplasm, especially in the absence of a full irrigation management (Hayek *et al.*, 2008; Benabderrahim *et al.*, 2015). The good performance of Mamuntanas, Ameristand 801S, Erfoud 1 and Sicilian ecotype, and the lower yield of the North-African landraces were also reported by Bellague *et al.* (2016) in a study based on yield and stress tolerance index. The Australian cultivar Sardi 10 was top yielding under dryland Mediterranean environments of Chile (del Pozo *et al.*, 2017).

The Algerian landrace Tamantit is featured by a high sensitivity to different pests and pathogens and it is not adapted to humid conditions (Aomari, 2011). However, Tamantit and Gabès 2355 produced better (about 30 t ha^{-1} DM over two years) than introduced varieties such as Magali (from France) and Lodi (from Italy) in the oasis of Adrar because of their high tolerance to the thermal stress caused by maximum temperature of 50°C (Bouaboub-

Mossab, 2001). Climatic and soil conditions appeared to be a major determinant of the variation in cultivar response in this study. As Algeria is largely characterised by low and irregular rainfall, while salt-affected soils are also widespread, drought- and salt-tolerant cultivars should be selected to ensure appreciable yields. Stable yields are also needed under such unpredictable conditions. The application of the AMMI model facilitated the visual comparison and identification of the most adapted cultivar(s) in each target environment. Cultivars such as Ameristand 801S, Sicilian ecotype and Erfoud 1 could be recommended in salinity-affected areas such as Hmadna. Mamuntanas, Sardi 10, Sicilian ecotype and ABT 805 seemed best adapted in moderately favourable environments such as Alger. The Italian cultivar Sicilian ecotype had an acceptable and stable yield across environments. However, similar experiments should be envisaged on a wider scale across Algeria to better assess the adaptation and stability of alfalfa germplasm, which could serve as a basic breeding material to develop new drought- and salt-tolerant varieties.

References

- Abdelguerfi A, Laouar M, 2002. Les espèces fourragères et pastorales, leurs utilisations au Maghreb (Algérie, Maroc, Tunisie). Editions Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), Bureau régional de la FAO pour le Proche-Orient et l'Afrique du Nord.
- Alessandri A, De Felice M, Zeng N, Mariotti A, Pan Y, Cherchi A, Lee JY, Wang B, Ha KJ, Ruti P, Artale V, 2014. Robust assessment of the expansion and retreat of Mediterranean climate in the 21st century. *Sci. Rep.* 4:7211.
- Annicchiarico P, 2002. Genotype \times environment interactions: challenges and opportunities for plant breeding and cultivar recommendations. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) Plant Production and Protection, Paper No. 174, Rome, Italy.
- Annicchiarico P, Pecetti L, Abdelguerfi A, Bouizgaren A, Carroni AM, Hayek T, M'Hammadi-Bouzina M, Mezni M, 2011. Adaptation of landrace and variety germplasm and selection strategies for lucerne in the Mediterranean basin. *Field. Crop. Res.* 120:283-91.
- Annicchiarico P, Pecetti L, Tava A, 2013. Physiological and morphological traits associated with adaptation of lucerne (*Medicago sativa*) to severely drought-stressed and to irrigated environments. *Ann. Appl. Biol.* 162:27-40.
- Annicchiarico P, Barrett B, Brummer EC, Julier B, Marshall AH, 2015. Achievements and Challenges in Improving Temperate Perennial Forage Legumes. *Crit. Rev. Plant. Sci.* 34:327-80.
- Aomari O, 2011. Comportement de seize cultivars de luzerne pérenne (*Medicago sativa* L.) en essai pluvial et irrigué au niveau de la Mitidja. Degree Magister, Ecole Nationale Supérieure Agronomique of Algiers, Algeria.
- Ballesta A, Lloveras J, 2010. Nitrogen replacement value of alfalfa to corn and wheat under irrigated Mediterranean conditions. *Span. J. Agric. Res.* 8:159-69.
- Barrios PG, Castro M, Pérez O, Vilaró D, Gutiérrez L, 2017. Genotype by environment interaction in sunflower (*Helianthus annuus* L.) to optimize trial network efficiency. *Span. J. Agric. Res.* 15:19.
- Bellague D, M'Hammadi-Bouzina M, Abdelguerfi A, 2016. Measuring the performance of perennial alfalfa with drought tolerance indices. *Chil. J. Agr. Res.* 76:273-84.

- Benabderrahim MA, Haddad M, Hamza H, Ferchichi A, 2011. Germination and emergence variability of alfalfa (*Medicago sativa* L.) landraces collected in Southern Tunisia oases. *Span. J. Agric. Res.* 9:135-43.
- Benabderrahim MA, Hamza H, Mansour H, Ferchichi A, 2015. A comparison of performance among exotic and local alfalfa (*Medicago sativa* L.) ecotypes under Tunisian conditions. *Rom. Agric. Res.* 32:43-51.
- Bouaboub-Mossab K, 2001. Comportement de variétés et populations de luzerne pérenne (*Medicago sativa* L.). Degree Magister, Institut National Agronomique of Algiers, Algeria.
- Bouizgaren A, Farissi M, Ghoulam C, Kallida R, Faghire M, Barakate M, Al Feddy MN, 2013. Assessment of summer drought tolerance variability in Mediterranean alfalfa (*Medicago sativa* L.) cultivars under Moroccan fields conditions. *Arch. Agron. Soil. Sci.* 59:147-60.
- Chedjerat A, M'Hammedi-Bouzina M, Gacemi A, Abdelguerfi A, 2016. Forage yield components of various alfalfa (*Medicago sativa* L.) cultivars grown on salt-affected soil under rainfed and irrigated conditions in a Mediterranean environment. *J. Agric. Res.* 11:3246-53.
- del Pozo A, Ovalle C, Espinoza S, Barahona V, Gerding M, Humphries A, 2017. Water relations and use-efficiency, plant survival and productivity of nine alfalfa (*Medicago sativa* L.) cultivars in dryland Mediterranean conditions. *Eur. J. Agron.* 84:16-22.
- Fagnano M, Maggio A, 2018. On the interactions among tropospheric ozone levels and typical environmental stresses challenging Mediterranean crops. *Environ. Sci. Pollut. R.* 25:8174-80.
- Gauch HG, 2006. Statistical analysis of yield trials by AMMI and GGE. *Crop. Sci.* 46:1488-500.
- Gauch HG, Piepho HP, Annicchiarico P, 2008. Statistical analysis of yield trials by AMMI and GGE: Further considerations. *Crop. Sci.* 48:866-89.
- Grieve CM, Grattan SR, Maas EV, 2012. Plant salt tolerance. In: W. Wallender and K. K. Tanji (Eds.), *Agricultural Salinity Assessment and Management* (2nd edition). ASCE, Reston, VA, USA, pp 405-59.
- Hayek T, Loumerem M, Nagaz K, Thabet M, 2008. Growth development and dry matter yield of 16 Lucerne genotypes cultivated in south Tunisia. *Options Méditerranéennes Series A*, 79:299-302.
- Pecetti L, Carroni AM, Annicchiarico P, Manunza P, Longu A, Congiu G, 2008. Adaptation, summer survival and autumn dormancy of lucerne cultivars in a south European Mediterranean region (Sardinia). *Options Méditerranéennes Series A* 79:471-4.
- Pecetti L, Annicchiarico P, De Rosa L, Proietti S, 2013. Targeting lucerne cultivars to saline-soil environments. In: S. Barth and D. Milbourne (ed.) *Breeding strategies for sustainable forage and turf grass improvement*. Springer, Dordrecht, The Netherlands, pp 249-53.
- Peverill KI, Sparrow LA, Reuter DJ, 1999. *Soil analysis: an interpretation manual*. CSIRO Publishing, Collingwood, Vic.
- Purchase JL, Hatting H, Van Deventer CS, 2000. Genotype × environment interaction of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) in South Africa: II. Stability analysis of yield performance. *S. Afr. J. Plant. Soil.* 17:101-7.
- Small E, 2010. *Alfalfa and relatives: Evolution and classification of Medicago*. NRC Research Press, Ottawa, and CAB International, Wallingford.
- Volaire F, Barkaoui K, Norton M, 2014. Designing resilient and sustainable grasslands for a drier future: adaptive strategies, functional traits and biotic interactions. *Eur. J. Agron.* 52:81-9.
- Zobel RW, Wright MJ, Gauch HG, 1988. Statistical analysis of a yield trial. *Agron. J.* 80:388-93.