

SECTION C

**Biotechnologies et sélection pour l'adaptation
aux stress biotiques et abiotiques**

Communications orales C1 à C5

C1 : Variation somaclonale et sélection *in vitro* pour l'amélioration de la tolérance aux stress abiotiques chez le riz (*Oryza sativa* L.)

BERTIN P.¹, LUTTS S., VAN SINT JAN V., COSTA DE MACEDO C., KINET J.-M.

Université catholique de Louvain, Laboratoire de Cytogénétique, place Croix du Sud 5
b13, B-1348 Louvain-la-Neuve, BELGIQUE

¹ : Adresse actuelle: Station d'Amélioration des Plantes, rue du Bordia 4, B-5030
Gembloux, BELGIQUE

INTRODUCTION

Le riz (*Oryza sativa* L.) est l'une des principales plantes alimentaires du globe : il constitue la nourriture de base de plus de la moitié de l'humanité. Son importance est particulièrement grande dans les régions intertropicales, zones où la croissance démographique pèse le plus sur un équilibre alimentaire précaire. Rien d'étonnant, dès lors, qu'il soit de plus en plus souvent cultivé dans des zones marginales, où la salinité, la toxicité aluminique, et les basses températures sont les facteurs abiotiques qui limitent le plus sa productivité et l'extension de sa culture. La création de génotypes nouveaux, résistants à ces contraintes, constitue une des voies possibles pour résoudre ce problème. Plusieurs méthodologies peuvent être envisagées : les techniques classiques d'amélioration des plantes, l'ingénierie génétique et les variations induites par les cultures de tissus - variation somaclonale -, phénomène connu depuis plus de trente ans. Chez le riz, le taux de variation particulièrement élevé en culture *in vitro* confère un intérêt réel à cette technique, couplée ou non à la sélection *in vitro*, à des fins d'amélioration.

Au cours de ces dix dernières années, la variation somaclonale a été utilisée au laboratoire de Cytogénétique pour la production de génotypes plus résistants aux stress abiotiques. Ces génotypes ont été criblés pour leur résistance pendant plusieurs générations, en conditions contrôlées et dans certains cas au champs, et analysés d'un point de vue physiologique et/ou biochimique afin de mieux comprendre les facteurs impliqués dans les mécanismes de résistance qui ont conduit à leur amélioration.

Cet article est une synthèse de différents travaux dont certains ont fait l'objet de publications antérieures. Il rappelle de manière simplifiée les techniques utilisées et quelques résultats sont présentés à titre indicatif. Le lecteur se reportera aux publications citées en annexe pour de plus amples informations.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Matériel végétal et techniques de criblage variétal

Au total, 44 variétés de riz ont été testées pour leur résistance aux différents stress étudiés et/ou pour leur aptitude à la culture *in vitro*. Pour la résistance à l'aluminium, les plantes ont été cultivées sur des solutions nutritives renfermant des doses d'aluminium de 0, 500, 1000 ou 1500 $\mu\text{atg L}^{-1}$ (Costa de Macedo et al., 1997). Pour la résistance à la salinité, les teneurs en NaCl de la solution nutritive étaient de 0, 10, 20, 30, 40 et 50 mM (Lutts et al., 1995). Pour la résistance aux basses températures, les

plantes ont été cultivées sur mélange de terre à 5 ou 10°C, durant 3, 6 ou 9 jours (Bertin et al., 1996). Les observations ont été réalisées après différentes durées d'exposition au stress.

Sur base de différents tests de résistance et de tests d'aptitude à la culture *in vitro*, plusieurs variétés ont été retenues de façon à représenter un éventail suffisamment large quant à leur résistance au stress considéré.

Les variétés dont il sera question dans cet article sont Aiwu et IR6115-6-1 pour l'étude de la résistance à l'aluminium, I Kong Pao, Aiwu et IR2153 dans le cas de la salinité, Facagro 57, Facagro 76, Kirundo 3 et Kirundo 9 pour l'étude des basses températures.

Techniques de culture et de sélection *in vitro*

Des cals ont été produits au départ d'embryons matures et cultivés à 25°C à l'obscurité sur milieu LS (Linsmaier et Skoog, 1965) additionné de 0,5 mg L⁻¹ 2,4-D, 1 mg L⁻¹ ANA, 1 mg L⁻¹ BA, 30 g L⁻¹ saccharose et 2,5 ou 4 g L⁻¹ Gelrite™, à pH 5,7. Après 4 semaines de callogenèse en l'absence de stress, les cals ont été subcultivés soit en conditions de sélection *in vitro*, soit en l'absence de stress. Dans le cas de la sélection pour la tolérance à l'aluminium, le pH et la composition minérale du milieu ont été modifiés, afin de permettre une meilleure expression de la toxicité aluminique (Van Sint Jan et al., 1997). L'aluminium a été ajouté au milieu de culture à des concentrations variant de 250 à 2500 µatg L⁻¹. La durée de culture était de 20 semaines. Pour la résistance à la salinité, les doses de NaCl ajoutées au milieu LS étaient comprises entre 50 et 350 mM, et les durées de culture entre 2 et 6 mois (Lutts, 1996). Pour la résistance aux basses températures, le milieu LS est resté inchangé et les cals ont été cultivés à 4°C durant 2 à 6 semaines (Bertin et al., 1995).

Les cals ont ensuite été placés sur milieu de régénération de plantes (minéraux de LS à mi-concentration, additionnés de 0,01 mg L⁻¹ 2,4-D, 1 mg L⁻¹ ANA, 1 mg L⁻¹ BA, 20 g L⁻¹ saccharose et 4 g L⁻¹ Gelrite™, à pH 5,7), en présence de lumière et à 25°C. Les cals porteurs de plantules régénérées (R₀) ont alors été placés sur milieu de développement racinaire (minéraux de LS additionnés de 1 mg L⁻¹ AIA, 30 g L⁻¹ saccharose et 4 g L⁻¹ Gelrite™, à pH 5,7), en présence de lumière et à 25°C.

Acclimatation et criblage des vitro-plants

Les plantules ont été acclimatées en serre et le criblage des plantes a eu lieu en conditions de stress pendant une ou plusieurs générations. Pour chaque stress, la procédure de criblage la plus discriminante parmi celles testées au niveau variétal a été retenue. Le criblage pour la résistance à l'aluminium est réalisé par culture en présence de 1500 µatg L⁻¹ de Al pendant 80 jours, au départ de 63 plantes régénérées pendant 4 générations successives. Pour la salinité, une méthodologie similaire est suivie, 154 familles R₁ étant mises en présence de 30 mM de NaCl pendant 21 jours. Pour les basses températures, environ 4000 vitro-plants R₁ ont été criblés à 5°C pendant 5 jours pour la variété la plus tolérante aux basses températures, à 10°C pendant 9 et 6 jours, respectivement pour la variété intermédiaire et pour les variétés les plus sensibles ; les descendances des survivants ont été testées jusqu'en R₃. Les résultats des sélections ainsi opérées ont été comparés aux résultats d'une sélection massale réalisée sur les variétés de départ. En outre, d'autres vitro-plants ont été testés pour leur tolérance aux basses températures par culture en altitude au Burundi (de 800 à 1950 m) pendant deux générations (Bertin et al., 1996b, 1997b).

Caractérisation physiologique ou biochimique des vitro-plants sélectionnés

Les familles ou lignées de vitro-plants dont le niveau de résistance était le plus élevé ont été soumises à différents tests et comparées aux variétés dont elles proviennent. La concentration en aluminium dans les feuilles et dans les racines a été déterminée pour les lignées R_0 résistantes, la variété d'origine et une variété résistante (Van Sint Jan et al., 1994). Les lignées résistantes au NaCl ont été analysées en R_1 et R_2 pour leur teneur en minéraux, la tolérance tissulaire au NaCl et la perméabilité membranaire (Lutts, 1996). Les familles somaclonales résistantes aux basses températures ont été analysées en R_3 pour la perméabilité membranaire (Bertin et al., 1996a), l'efficacité photosynthétique (Bertin et al., 1997a) et leurs teneurs en acides gras (Bertin et Bouharmont, 1997).

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Tests de résistance des vitro-plants

Pour la résistance à la salinité, 17 familles R_1 ont présenté des taux de survie significativement supérieurs à ceux de la variété initiale. Pour la résistance à l'aluminium, la procédure de sélection menée durant 4 générations (de la R_0 à la R_3) a conduit à la sélection de trois lignées particulièrement résistantes. La résistance a été perdue pour d'autres lignées en R_1 ou en R_2 . Enfin, des résultats similaires ont été obtenus dans le cas de la résistance au froid.

Lorsqu'elle a été réalisée (cas de l'étude de la salinité et des basses températures), la sélection massale n'a jamais permis d'obtenir une telle amélioration, prouvant que celle-ci ne provient pas de la variabilité préexistante au sein des variétés utilisées, mais bien de la sélection d'une variabilité produite ou tout au moins révélée par la culture *in vitro*, ce qui correspond à la variation somaclonale au sens large. Ces résultats suggèrent que la variation somaclonale peut présenter un caractère novateur en induisant l'apparition de caractéristiques qui n'existent pas au sein de la variété initiale et dont certaines, génétiquement transmissibles, pourraient être utilisées dans un programme d'amélioration.

L'effet de la sélection *in vitro* est plus controversé. Il n'y a pas de relation définie entre les performances des familles R_1 et la dose de NaCl à laquelle la plante parentale R_0 a été sélectionnée en phase de culture *in vitro*; les lignées résistantes ont été produites au départ de cals stressés ou non au NaCl. Aucune famille provenant d'une sélection en présence de sel en phase d'enracinement ou d'une application progressive des pressions sélectives lors de la culture *in vitro* ne présente d'avantage par rapport à la variété initiale. D'autre part, une des trois familles sélectionnées pour la résistance à l'aluminium provient d'un cal n'ayant subi aucune pression de sélection. Pour les basses températures, l'effet de la sélection *in vitro* est lié à la variété utilisée: les familles les plus résistantes ont été obtenues par les pressions de sélection les plus longues pour la variété la plus résistante, des durées moyennes pour la variété de résistance intermédiaire, et en l'absence de stress *in vitro* pour les deux variétés sensibles. Il semble donc que, pour être efficace, une pression de sélection appliquée *in vitro* doit faire l'objet d'un ajustement en fonction du génotype de départ.

Les tests en champs ont mis en évidence la présence d'un très grand nombre de vitro-plants présentant des caractères délétères. Cependant, bon nombre de ceux-ci sont éliminés en une seule génération. Des vitro-plants plus résistants ont pu être obtenus, à condition toutefois d'appliquer une pression de sélection (par culture à une altitude suffisamment élevée) au niveau des plantes dès la première génération.

Caractérisation physiologique ou biochimique des vitro-plants sélectionnés

Les plantules des lignées résistantes à l'aluminium cultivées en présence de fortes doses de cet élément en accumulent nettement moins au niveau des feuilles que les plantes sensibles.

Pour la salinité, contrairement aux plantules provenant d'une sélection massale, 4 familles R₁ se distinguent des variétés initiales par des modifications physiologiques déterminantes, dont la relation avec la résistance au NaCl a été démontrée précédemment (Lutts et al., 1996a, 1996b) : meilleure discrimination K-Na, accumulation préférentielle d'ions toxiques au sein des tissus âgés, meilleure tolérance tissulaire au NaCl, plus faible perméabilité membranaire associée à une plus forte teneur en Ca et à une moindre accumulation de Zn, selon les lignées. Dans les trois derniers cas, une augmentation significative du nombre d'épillets par panicule et du poids total de grains produit par plante fertile a été observée. Les deux premières modifications précitées ont été transmises à la descendance R2.

Pour la résistance au froid, les études concernant la perte d'électrolytes, l'efficacité photosynthétique et les teneurs en acides gras aboutissent aux mêmes conclusions : les différentes familles somaclonales provenant d'une même variété se comportent généralement de la même manière lorsqu'elles sont comparées aux témoins. Cependant, les tendances sont différentes selon l'origine variétale : les pertes d'électrolytes sont généralement plus faibles chez les familles somaclonales provenant de Kirundo 9 et Facagro 76 que chez les témoins correspondants, ce qui indique une meilleure conservation de la semi-perméabilité des membranes cellulaires soumises au froid. Chez Kirundo 3, par contre, les pertes d'électrolytes des familles somaclonales sont plus élevées que chez la variété de départ, mais l'efficacité photosynthétique de ces familles est supérieure à celle des témoins, ce qui n'était pas le cas pour les familles issues de Facagro 76 et Kirundo 9. La composition en acides gras des phospholipides et galactolipides est modifiée dans plusieurs familles somaclonales. Ces changements se traduisent le plus souvent par un indice de doubles liaisons plus élevé, ou par de plus fortes teneurs en acides linoléique et linoléique, caractères souvent associés à la résistance aux basses températures.

L'usage des familles somaclonales pour l'étude des mécanismes impliqués dans la tolérance aux stress abiotiques a donc conduit à des résultats inattendus. Pour chaque caractérisation physiologique ou biochimique effectuée, une partie seulement des lignées sélectionnées a présenté des caractéristiques propres aux plantes plus résistantes, ce qui démontre la diversité des mécanismes impliqués dans la résistance à un stress donné et son amélioration par la voie de la variation somaclonale.

En conclusion, la variation somaclonale constitue un outil susceptible d'être utilisé à des fins fondamentales, telle que l'étude des mécanismes de résistance aux stress abiotiques, ou à des fins appliquées, telles que l'amélioration des plantes pour ces mêmes résistances. L'obtention d'une nouvelle variété résistante nécessiterait cependant sa culture au champs pendant plusieurs générations supplémentaires.

Remerciements

Ce travail a été financé par l'Union européenne (TS3-CT92-0095), une bourse F.N.R.S. (Belgique) et une bourse C.A.P.E.S. (Brésil). Les auteurs remercient Mrs. J. Bar, M. Hennebert et W. Deprins pour leur excellente assistance technique, le Pr. J. Bouharmont pour ses nombreux conseils, ainsi que Mme N. Skali-Senhaji et Mrs. A. Dekeyser et M. Amssa pour leurs travaux antérieurs ou parallèles.

Bibliographie

1. BERTIN P., KINET J.-M., BOUHARMONT J., 1995. Heritable chilling tolerance improvement in rice through somaclonal variation and cell line selection. *Aust J. Bot.* 44: 91-105.
2. BERTIN P., BOUHARMONT J., KINET J.-M., 1996a. Somaclonal variation and chilling tolerance in rice: changes in chilling-induced electrolyte leakage. *Plant Breed.* 115: 268-272.
3. BERTIN P., BUSOGORO J.-P., TILQUIN J.-P., KINET J.-M., BOUHARMONT J., 1996b. Field evaluation and selection of rice somaclonal variants at different altitudes. *Plant Breed.* 115: 183-188.
4. BERTIN P., KINET J.-M., BOUHARMONT J., 1996c. Evaluation of chilling sensitivity in different rice varieties. Relationship between screening procedures applied during germination and vegetative growth. *Euphytica* 89: 201-210.
5. BERTIN P., BOUHARMONT J., 1997. Use of somaclonal variation and *in vitro* selection for chilling tolerance improvement in rice. *Euphytica* (96:135-142).
6. BERTIN P., BOUHARMONT J., KINET J.-M., 1997a. Somaclonal variation and chilling tolerance in rice: changes in chilling-induced chlorophyll fluorescence. *Crop Sci.* (37:1727-1735).
7. BERTIN P., BUSOGORO J.-P., TILQUIN J.-P., KINET J.-M., BOUHARMONT J., 1997b. Field performances of rice somaclones at low temperature: effects of callus chilling treatment. *Crop Sci.* (37:1943-1950).
8. COSTA DE MACEDO C., KINET J.-M., VAN SINT JAN V., 1997. Effects of duration and intensity of aluminium stress on growth parameters in four rice genotypes differing in aluminium sensitivity. *J. Plant Nutr.* 20: 181-193.
9. LINSMAIER E.M., SKOOG F., 1965. Organic growth factor requirements of tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 18: 100-127.
10. LUTTS S., 1996. Étude des mécanismes de résistance à la salinité chez le riz (*Oryza sativa* L.): variation somaclonale et stratégie d'amélioration par utilisation des cultures *in vitro*. Thèse de doctorat, Université catholique de Louvain, Belgique. 379 p.
11. LUTTS S., KINET J.-M., BOUHARMONT J., 1995. Changes in plant response to NaCl during development of rice (*Oryza sativa* L.) varieties differing in salinity resistance. *J. Exp. Bot.* 46: 1843-1852.
12. LUTTS S., KINET J.-M., BOUHARMONT J., 1996. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Ann. Bot.* 78: 389-398.
13. VAN SINT JAN V., BOUHARMONT J., 1994. Amélioration de la tolérance à l'aluminium chez le riz, par sélection *in vitro*. *Rev. Cytol. Biol. végét. - Bot.* 17: 99-104.
14. VAN SINT JAN V., COSTA DE MACEDO C., KINET J.-M., BOUHARMONT J., 1997. Selection of Al-resistant plants from a sensitive rice cultivar, using somaclonal variation, *in vitro* and hydroponic cultures. *Euphytica* (97:303-310).

C2 : Apport des marqueurs biochimiques et moléculaires dans l'étude de la structure génétique des palmeraies marocaines

BENDIAB K.^{1,2}, BAAZIZ M.¹, MAJOURHAT K.¹, MOKHLISSE N.¹

¹ Laboratoire de Biochimie et Amélioration des Plantes, Université Cadi Ayyad, Faculté des Sciences-Semlalia, B.P. S 15 Marrakech, Maroc.

² Laboratoire de Biochimie, Université Cadi Ayyad, Faculté des Sciences, et Techniques de Gueliz, B.P. 618, Marrakech, Maroc.

Le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.), monocotylédone pérenne, est l'arbre pivot de l'écosystème oasien des régions sahariennes et pré-sahariennes. Les zones les plus favorables à sa culture sont comprises entre les degrés 24 et 34 de latitude nord (pays du Maghreb, Iraq, ...). Aux États-Unis d'Amérique, la culture du palmier dattier s'étend du 33^e au 35^e parallèle. Seules des surfaces négligeables de palmier dattier existent dans l'hémisphère sud (Australie, Amérique du sud).

Les cultivars constituent la première catégorie de ressources génétiques du palmier dattier. Ils résultent d'une multiplication végétative par bouturage des rejets provenant d'un même pied. La plupart des cultivars ne s'adaptent pas dans des régions différentes de leur aire d'origine. Ainsi, l'hétérogénéité de ce matériel à l'échelle d'un même cultivar, a été souvent remarquée. C'est le cas de certains cultivars algériens qui sont très polymorphes (Deglet Nour et Timjohart), par comparaison à d'autres variétés plus homogènes (Tinnaser et Hmira) [1].

La deuxième catégorie de ressources génétiques du palmier dattier, souvent oubliée, est représentée par les *khalts* (appelés également *sairs*). Elle correspond aux palmiers provenant d'une multiplication sexuée donnant un matériel très hétérogène pouvant être mâles ou femelles.

Selon les évaluations de la Direction de la Production Végétale (1990), le nombre des palmiers dattiers au Maroc est 4,25 millions de pieds répartis sur 84 500 ha et dont une grande partie est constituée de khalts très diversifiés et de qualité variable [2]. Actuellement, ce matériel reste encore non identifié. En Algérie, le nombre de palmiers dattiers s'élève à 9 millions dont 45 % de la variété Deglet Nour. Il occupe une superficie de presque 85000 ha [3]. En Tunisie, les palmeraies comptent au total 3 millions de pieds dont 56 % de la variété Deglet Nour [4]. La superficie occupée s'élève à 22500 ha.

La production des dattes au Maroc est étroitement liée à la composition variétale des palmeraies. Elle est caractérisée par la rareté des dattes de bonne qualité fruitière (Mejhoul, Bou-Feggous, Jihel et Bou-Skri) qui ne représentent que 25 % de la production nationale. Cette proportion est variable d'une région à l'autre. Elle est d'environ 30 % dans la région de Tafilalet et seulement 12 % dans la région d'Ouarzazate.

L'identification des cultivars est la première opération nécessaire pour la valorisation des palmeraies. Elle est basée essentiellement sur les caractéristiques des dattes obtenues après fructification (âge des plantes égal environ à 7 ans). Cette méthode, ne

pouvant être appliquée que pendant une courte durée du cycle du palmier dattier, ne permet pas d'effectuer une sélection précoce des génotypes supérieurs chez le palmier dattier.

Depuis une quinzaine d'années, environ, les recherches sur les marqueurs biochimiques et moléculaires appliqués au palmier dattier, commencèrent à prendre de plus en plus d'importance [5-9]. Ces marqueurs ont été exploités en particulier, dans l'identification variétale et la comparaison des plants descendant des croisements dirigés.

Dans ce travail, la composition variétale de 7 palmeraies marocaines est déterminée sur la base de marqueurs isoenzymatiques reproductibles et faciles à révéler chez le palmier dattier. Ils correspondent aux systèmes estérases (EST), glutamate oxaloacétate transaminase (GOT) et endopeptidases (ENP).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Afin d'identifier les cultivars de palmier dattier par méthode isoenzymatique, les folioles sont prélevées à partir de 28 cultivars de palmier dattier préalablement décrits par Pereau-Leroy [10] et Saaidi [11]. Ils font partie de la collection de la station phoenicicole de Nebch à Zagora. Le **tableau 1** donne un aperçu sur leurs caractéristiques principales et leurs localités originales.

Tableau 1 : Cultivars de palmier dattier utilisés dans cette étude.

Cultivars*	Abréviation	Caractéristiques du fruit
Bou-Skri	BSK	Datte sèche, qualité bonne
Bou-Feggous ou Moussa	BFGM	Datte molle, qualité faible
Bou-Sthammī Blanche	BSTB	Datte molle, qualité moyenne
Bou-Zeggar	BZG	Datte semi-molle, qualité bonne
Haoua	HOA	Datte semi-molle, qualité moyenne
Race-Lahmar	RLM	Datte semi-sèche, qualité moyenne
Bou-Sthammī Noire	BSTN	Datte molle, qualité moyenne, tardif
Mest-Ali	MST	Datte semi-molle, qualité très bonne
Jihel	JHL	Datte semi-sèche, qualité bonne, tardif
Oum-N'hale	OMH	Datte molle, qualité très bonne
Ahardane	AHD	Datte semi-molle, qualité moyenne
Bou-Cerdoun	BCD	Datte semi-sèche, qualité moyenne
Bou-Ittob	BIT	Datte semi-sèche, qualité bonne
Outoukdim	OTK	Datte semi-sèche, qualité bonne
Mah-Lbaid	MLB	Datte molle, qualité bonne, très tardif
Tadment	TDMT	Datte semi-sèche, qualité bonne, précoce
Admou	ADM	Datte semi-sèche, qualité moyenne
Bel-Hazit	BAZ	Datte semi-molle, qualité moyenne
Mekt	MKT	Datte molle, qualité moyenne
Sair Layalet	SLY	Datte semi-sèche, qualité bonne
Azegzao	AZO	Datte sèche, qualité faible, précoce
Iklane	IKL	Datte molle, qualité faible, très tardif
Bou-Feggous	BFG	Datte molle, qualité très bonne, précoce
Bou-Temda	BTD	Datte semi-sèche, qualité moyenne
Aguelid	AGL	Datte semi-molle, qualité bonne, très précoce
Bou-Slikhene	BSL	Datte semi-sèche, qualité moyenne
Aissa-Youb	AIB	Datte semi-sèche, qualité moyenne
Mejhoul	MJH	Datte molle, qualité très bonne, précoce

* Tous les cultivars sont décrits dans Saaidi (1979).

Afin de déterminer la composition variétale des palmeraies, les folioles provenant de 95 à 391 palmiers sont échantillonnées à partir de 7 palmeraies de situations géographiques différentes (**Tableau 2**).

Tableau II. Palmeraies étudiées et leurs localisations géographiques approximatives.

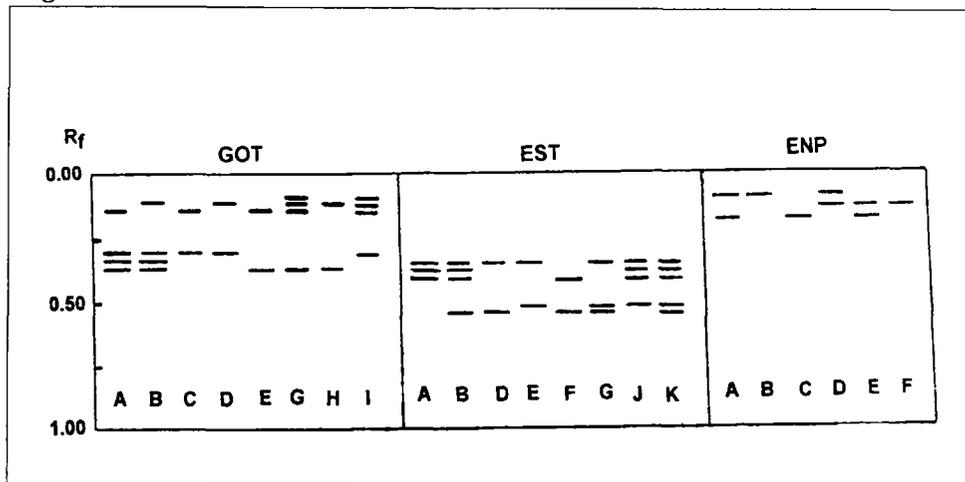
Palmeraie	Rivière	Position géographique approximative
Marrakech (1)	Tensift	Marrakech, nord du haut Atlas
Skoura (2)	Dades	Dades, entre le haut Atlas et Jbel Saghro
Agdz (3)	Draa	Draa, sud du Jbel Saghro
Zagora (4)	Draa	Draa, sud du Jbel Saghro
M'hamid (5)	Draa	Draa, sud du Jbel Saghro
Tinjdad (6)	Todra	Todra Todra, est du Jbel Saghro
Tafilalet (7)	Ziz	Tafilalet, est du Jbel Saghro

Les extraits enzymatiques sont préparés à partir des folioles en utilisant le tampon TAMET (pH 7,0) [8]. La séparation des isoenzymes d'estérase (EST), glutamate oxaloacétate transaminase (GOT) et endopeptidases (ENP) est réalisée sur gel de polyacrylamide 11 % [8, 12]. Les phénotypes isoenzymatiques sont appelés arbitrairement A-F, A-G et A-J pour les systèmes ENP, GOT et EST, respectivement. Les 28 cultivars de palmier dattier sont caractérisés par des triplets de phénotypes ENP-GOT-EST. Les fréquences de 26 triplets de phénotypes sont calculées pour chacune des 7 palmeraies étudiées. Elles permettent de déterminer la composition variétale des palmeraies investies.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

En utilisant de faibles quantités de folioles de palmier dattier, 21 phénotypes isoenzymatiques ont été obtenus pour les systèmes ENP, GOT et EST (**Figure 1**). Ces phénotypes reproductibles ont permis une identification rapide de la majorité des cultivars de la station expérimentale de Zagora [9].

Figure 1.



Afin de tester la présence ou l'absence des 28 cultivars de palmier dattier dans les 7 palmeraies marocaines investies, les fréquences des triplets ENP-GOT-EST les caractérisant, ont été déterminées (**Tableau 3**). Elles ont permis de démontrer que les cultivars JHL et BFG sont représentés dans toutes les palmeraies étudiées. Par contre, les cultivars TDMT, ADM et BAZ ne sont pas rencontrés. Cette absence est probablement due à leur faible représentativité [11]. Le cultivar BFG, précoce et de très bonne qualité fruitière, est rencontré principalement dans les régions de Tafilalet et Tinjdad. Le cultivar JHL, tardif, est prépondérant dans la palmeraie de M'hamid qui est caractérisée, également, par une proportion relativement élevée de la variété IKL, très tardive et résistante au Bayoud. C'est dans cette même localité qu'un pourcentage de présence élevé a été enregistré pour le cultivar BSK qui produit des dattes sèches s'apprêtant à une meilleure conservation. Quant à la palmeraie de Zagora, elle se distingue par la présence du cultivar BSTN, tardif, très résistant au Bayoud et caractérisé par des dattes noires, molles et difficiles à conserver. La palmeraie de Marrakech, située plus au nord, paraît être plus diversifiée, avec une proportion de khalts (palmiers inconnus) très élevée (80 %, environ). Ce pourcentage est variable d'une palmeraie à l'autre. Il est plus faible à M'hamid (22,30 %) et égal en moyenne à 67 % dans les autres palmeraies.

La composition variétale déterminée sur la base des phénotypes isoenzymatiques montre beaucoup de similitudes avec celles précédemment déterminées et qui reposent sur les caractères morphologiques (essentiellement le fruit) [10-11]. Ainsi, par exemple, la présence généralisée du cultivar BFG dans toutes les palmeraies, a été confirmée par les deux méthodes. L'abondance de ce cultivar dans les palmeraies de Tafilalet est confirmée par les données statistiques de la Direction de la Production Végétale où les dattes de première classe (MJH, BFG, BSK, AGL et Khalts) représentent 30,7 % [2] avec 25 %, environ, de BFG. Aussi, les évaluations concernant la proportion moyenne des khalts sont semblables. Dans ce cas, la méthode isoenzymatique, offrant plus de phénotypes électrophorétiques, peut être plus discriminante que la méthode classique, utilisée antérieurement.

Tableau 3 : Fréquences des triplets de phénotypes isoenzymatiques ENP, GOT and EST (dans l'ordre) déterminées pour 7 palmeraies marocaines.

Triplets de phénotypes ^a	Palmeraie ^b						
	1 (208)	2(112)	3(95)	4(278)	5(173)	6(108)	7(89)
AAA (BSK)	2,40	-	1,00	-	8,10	-	0,50
AAB (BFGM)	1,40	0,90	3,20	0,60	-	-	0,27
AAD(BSTB,BZG,HOA,RL M)	3,80 0,50	1,80 -	2,10 -	1,35 -	6,40 -	- -	4,72 0,25
DFD & FCD (RLM)	0,50	1,80	-	13,15	-	-	0,22
ACB & ACJ (BSTN)	2,90	4,50	1,10	2,10	0,60	-	1,27
ACD & BAD (MST)	2,90	4,50	28,40	14,60	40,50	1,8	2,65
AED (JHL)	-	0,90	-	-	-	-	-
AFD (OMH)	0,50	1,80	-	-	-	-	0,27
BAA (AHD)	1,00	0,90	1,10	-	-	-	0,22
BAD (BCD, BIT)	1,40	3,60	2,10	0,30	-	0,9	0,57
BAC (OTK)	0,50	-	-	-	-	-	-
BBB (MLB)	-	-	-	-	-	-	-
CDG (TDMT)	-	-	-	-	-	-	-
CFD (ADM)	-	-	-	-	-	-	-
CGA (BAZ)	-	-	-	-	-	0,9	0,75
DAA (MKT)	-	-	-	0,65	-	-	-
DAB (SLY)	1,00	0,90	-	-	1,20	-	1,17
DAC (AZO)	0,50	-	-	0,45	17,40	-	1,75
DAD (IKL)	1,00	2,70	8,50	4,45	3,50	30,6	26,00
DEC (BFG)	-	-	1,10	-	-	-	-
DEF (BTD)	-	-	-	0,85	-	-	0,30
EDD (AGL, BSL)	-	-	1,10	0,45	-	2,8	0,30
EEA (BIT)	0,50	1,80	1,10	2,15	-	2,8	3,85
EEC (AIB)	-	-	-	0,75	-	-	-
EEE (MJH)	79,20	73,90	49,20	58,15	22,30	60,2	54,80
Khalts							

^a entre parenthèses, les abréviations des cultivars comme décrit dans le tableau I

^b se reporter au tableau II pour les noms des palmeraies Le nombre des palmiers utilisés est indiqué entre parenthèses

Remerciements

Ce travail est soutenu par la Fondation Internationale pour la Science (Stockholm, Suède), le CNCPRST (Rabat, Maroc) et l'AUPELF-UREF.

Bibliographie

1. BRAC DE LA PERRIÈRE R.A., BENKHALIFA A. (1991) Progression de la fusariose du palmier dattier en Algérie. Sécheresse 2, 119-128.
2. HADDOUCH M. (1996) Situation actuelle et perspectives de développement du palmier dattier au Maroc. Options Méditerranéennes A 28, 63-79.

3. MESSAR E.M. (1996) Le secteur phoenicole algérien : Situation et perspectives à l'horizon 2010. Options Méditerranéennes A 28, 23-44.
4. RHOUMA A. (1996) Le palmier dattier en Tunisie : un secteur en plein expansion. Options Méditerranéennes A 28, 85-104.
5. TORRES A.M., Tisserat B. (1980). Leaf isoenzymes as genetic markers in date palm. Amer. J. Bot. 6, 162-167.
6. BAAZIZ M., SAAIDI M. (1988) Preliminary identification of date palm, cultivars by esterase isoenzymes and peroxidase activities. Can. J. Bot. 66, 89-93.
7. BENNACEUR M., LANAUD C., CHEVALLIER M.H., LANAUD C. (1991). Genetic diversity of the date palm (*Phoenix dactylifera* L.) from Algeria revealed by enzyme markers. Plant breed. 107, 56-69.
8. BENDIAB K., BAAZIZ M., BRAKEZ Z., SEDRA, MY H. (1993) Correlation of isoenzyme polymorphism and Bayoud-disease resistance in date palm cultivars and progeny. Euphytica 65, 23-32.
9. BAAZIZ M., BENDIAB K. (1994). Amélioration génétique du palmier dattier assistée par les marqueurs biochimiques et moléculaires. In : Quel avenir pour l'amélioration des plantes ?. AUPELF-UREF, Ed John Libbey Eurotext, Paris, pp.413-422.
10. PEREAU-LEROY P. (1958) Le palmier dattier au Maroc. Ministère de l'Agriculture, Service de la Recherche Agronomique, Maroc et Institut Français de Recherches Fruitière Outre-Mer.
11. SAAIDI M. (1979) Contribution à la lutte contre le Bayoud, fusariose vasculaire du palmier dattier. Thèse de Doctorat d'Université, Université de Dijon.
12. BENDIAB K. (1992) Contribution à l'étude de la variabilité enzymatique et protéique chez le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). Apport dans l'amélioration génétique de la plante. Thèse de Doctorat de 3^e cycle, Université Cadi Ayyad, Marrakech.

C3 : Recherche de critères physiologiques pour le tri de plantes tolérantes au sel

LACHÂAL M.¹, ABDELLY C.¹, SLEIMI N.¹, HAJJI M.², SOLTANI A.¹,
GRIGNON C.³

¹ Laboratoire de Nutrition Minérale, INRST, BP 95, 2050 Hammam-lif, Tunisie

² Département de Biologie, Faculté des Sciences de Tunis, Campus Universitaire,
1060 Tunis, Tunisie

³ Biochimie et Physiologie Moléculaire des Plantes, ENSA-M/INRA, 34060
Montpellier CEDEX 1, France.

INTRODUCTION

Le développement des cultures irriguées au champ, ou sous abri se heurte en Tunisie aux difficultés liées à l'utilisation intensive d'eaux de qualité médiocre. La mise en valeur des terres salées pour le pâturage ou tout autre système de production est un objectif agronomique national. Il résulte de cette situation que la recherche de variétés résistantes au sel présente un intérêt certain. La compréhension des mécanismes physiologiques impliqués dans la tolérance au sel est une étape déterminante pour établir des critères de tri d'espèces et de variétés intéressantes.

La réduction de la vitesse de production de matière sèche (MS) au stades végétatifs est un critère très fréquemment utilisé dans la littérature, car il est aisé à mesurer. La baisse de production de biomasse est une réponse classique à la contrainte saline. Elle est souvent associée à une accumulation importante de Na^+ et Cl^- dans les feuilles. Nous présentons ici des résultats tirés d'un ensemble d'expériences visant à déterminer si cette réduction de croissance est due aux restrictions (nutritionnelle ou hydriques) imposées par le sel dans le milieu, ou aux effets toxiques des ions accumulés dans les tissus. Ces résultats sont obtenus sur des plantes sensibles au sel (des légumineuses alimentaires : haricot, pois chiche et lentille), ou tolérantes (orge). Le laurier-rose, qui associe des caractères de tolérance et de sensibilité, est pris comme modèle de plante à comportement intermédiaire.

RÉSULTATS

Croissance et accumulation foliaire de Na^+ et Cl^- .

La masse de matière sèche de jeunes plantes âgées de quelques semaines est réduite quand elles sont cultivées sur milieu liquide en présence de NaCl. La concentration de sel causant une inhibition de croissance égale à 50 % de la croissance du témoin (cultivé en absence de sel) permet de classer les plantes sur une échelle de tolérance (Maas, 1986). Par exemple, la **figure 1** montre que cette concentration est de l'ordre de 5 g/l (85 mM) pour le haricot, de 10 g/l (170 mM) pour le laurier-rose, et 16 g/l (274 mM) pour l'orge.

Ces réductions de croissances s'accompagnent d'accumulations de Na^+ et Cl^- plus ou moins importantes dans les feuilles. Chez les glycophytes tolérants, comme chez les halophytes, les deux ions sont accumulés en quantités comparables (**Figure. 2**, cas de l'orge). La réduction de croissance est corrélée à l'accumulation ionique. Au contraire, l'accumulation foliaire de Na^+ reste très inférieure à celle de Cl^- chez les glycophytes

sensibles (**Figure 2**, cas du haricot). De plus, chez ces derniers, on peut observer une réduction de croissance prononcée alors que l'accumulation de Na^+ et Cl^- est relativement faible.

Ces exemples suggèrent que la sensibilité au sel de la croissance est liée à l'aptitude des plantes à tolérer l'accumulation de Na^+ et Cl^- dans leurs feuilles, particulièrement dans les plus jeunes d'entre elles (**Figure 3** et **Figure 4**).

Figure 1. Effet de NaCl sur la croissance. La production de matière sèche est exprimée en % de la production sur milieu sans sel. Les plantes sont âgées de 1 à 2 mois selon les espèces.

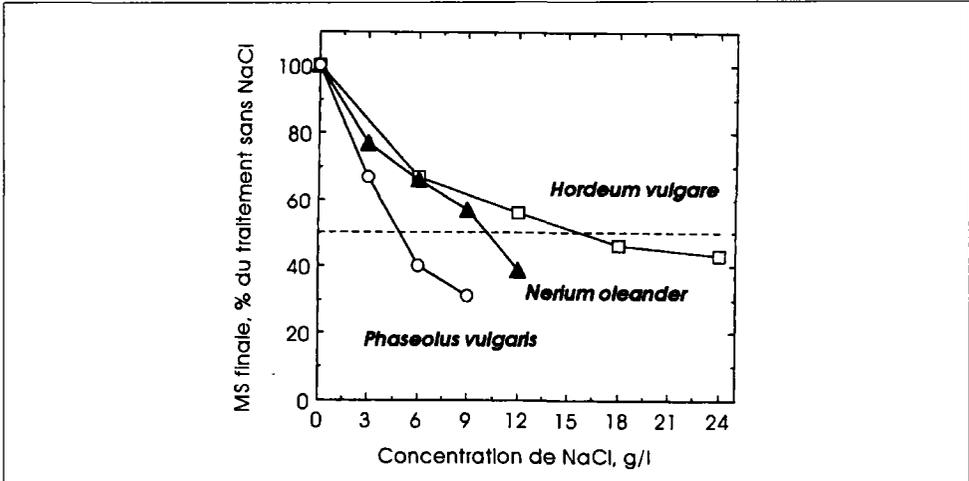


Figure 2. Relation entre l'accumulation de sodium dans les feuilles et leur croissance. Les plantes témoins sont cultivées dans un milieu dépourvu de NaCl.

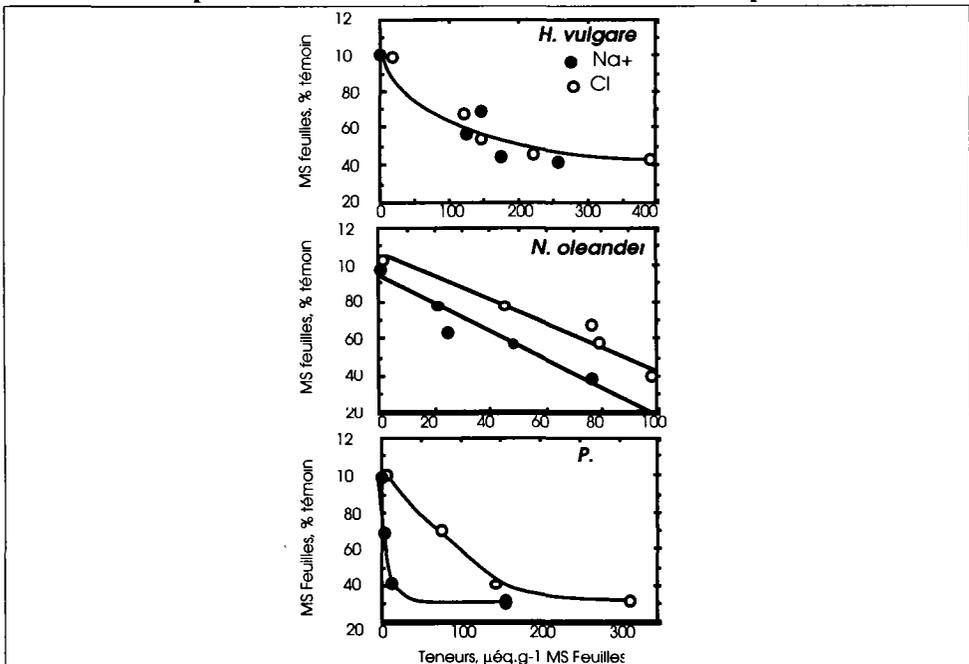


Figure 3. Croissance de la lentille et accumulation de sodium dans les feuilles. Tam et Wes sont deux populations de *L. culinaris*. La première est plus tolérante à la salinité que la seconde. V et Vs désignent respectivement un milieu à 10 mM/l de sodium, et un milieu à 36 mM/l. La variété sensible accumule plus de Na⁺ dans ses jeunes feuilles.

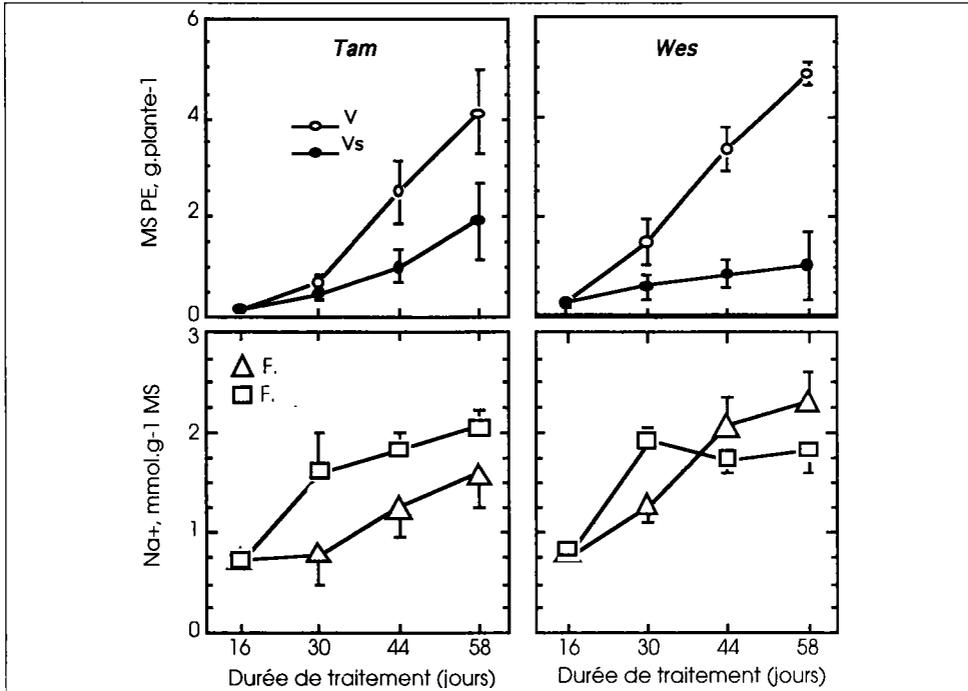
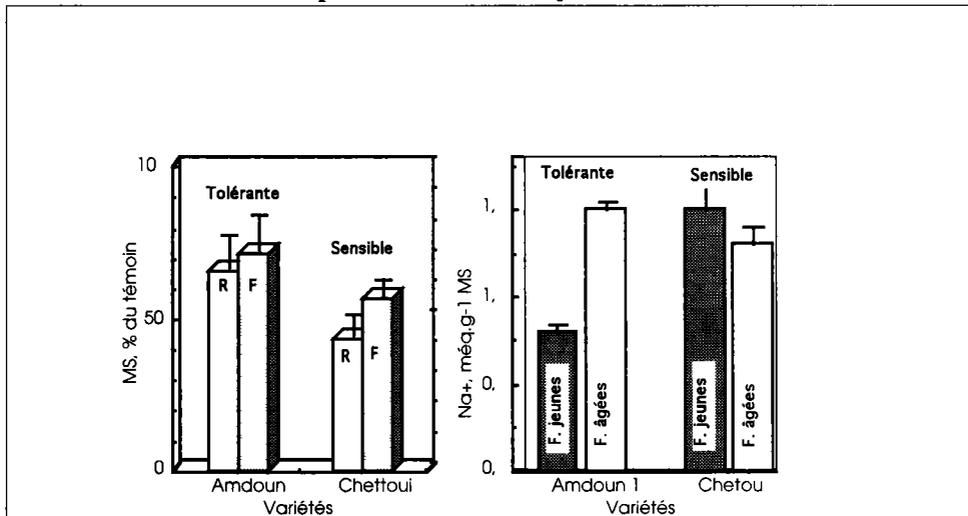


Figure 4. Croissance du pois chiche et accumulation de sodium dans les feuilles. Amdoun et Chettoui sont deux variétés de *Cicer arietinum*. La première est plus tolérante à la salinité que la seconde. Le milieu contient 34 mmol/l de NaCl. La variété sensible accumule plus de Na⁺ dans ses jeunes feuilles.



Croissance et approvisionnement en éléments essentiels (exemple de K^+)

La présence de sel dans le milieu conduit également à des perturbations de l'alimentation minérale de la plante. Par exemple, la quantité de K^+ accumulée dans les feuilles ($\mu\text{eq/plante}$) est fortement diminuée quand le milieu contient NaCl (Figure 5). Chez les deux plantes les plus sensibles (haricot et laurier-rose), cette diminution de la quantité de K^+ accumulée ne s'accompagne pas d'une baisse équivalente de la teneur en K^+ ($\mu\text{eq/g MS}$) (Figure 6). La relative constance de la teneur signifie que la croissance de la feuille est proportionnelle à la quantité de K^+ qui lui parvient, et suggère qu'en présence de sel dans le milieu, la nutrition potassique est limitante.

Figure 5. Relation entre l'accumulation de Na^+ dans les feuilles et la quantité totale de K^+ dans ces organes (cf. Figure 1).

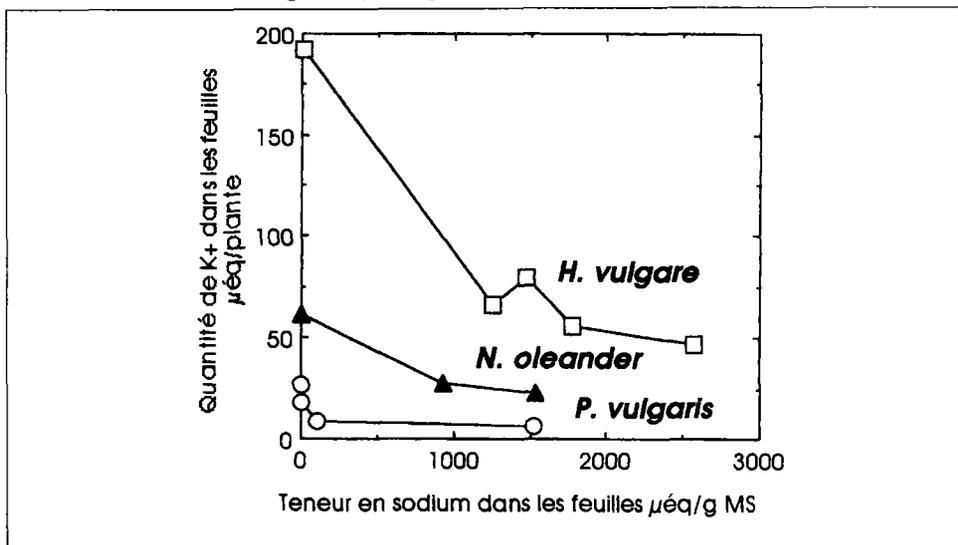
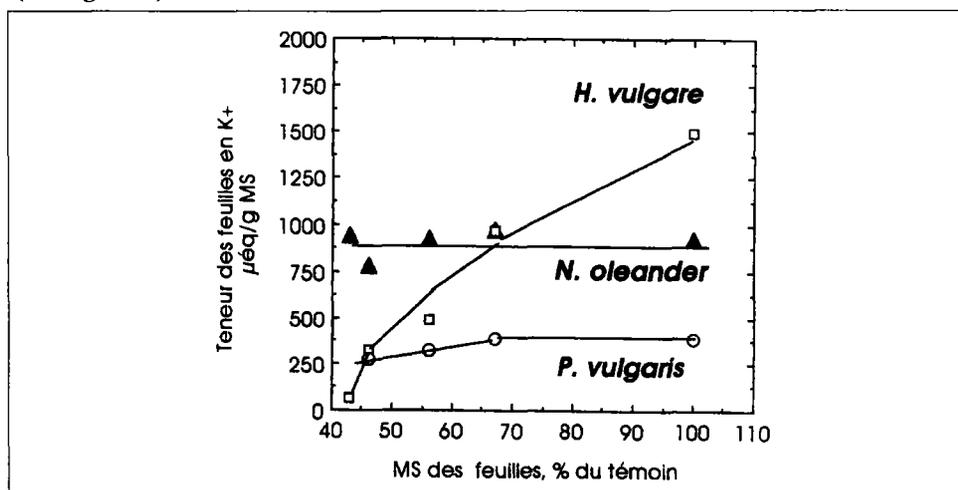


Figure 6. Relation entre la croissance des feuilles et la teneur en Na^+ . La croissance des plantes est modulée par la concentration de NaCl dans le milieu (cf. Figure 1).



Le sel induit d'autres perturbations de la nutrition minérale, au niveau des anions. Nous avons vu plus haut que les plantes sensibles transportent dans leurs feuilles moins de Na^+ que de Cl^- . Cette situation résulte essentiellement de l'exportation sélective vers le bas de la plante du sodium préalablement importé dans la feuille par le xylème (Lessani et Marschner, 1978). Le chlorure qui accompagne Na^+ dans la sève du xylème reste majoritairement dans la feuille, et le sodium exporté est accompagné d'autres anions tels que HPO_4^{2-} ou des acides organiques. L'une des conséquences de cette discrimination entre Na^+ et Cl^- est que chez les plantes sensibles (accumulatrices de Cl^-) cultivées en présence de sel, les feuilles les chlorures prennent la place d'autres anions indispensables pour la croissance. Il s'ensuit un déficit foliaire en anions indispensables, que l'on peut évaluer par le paramètre ΔA^- :

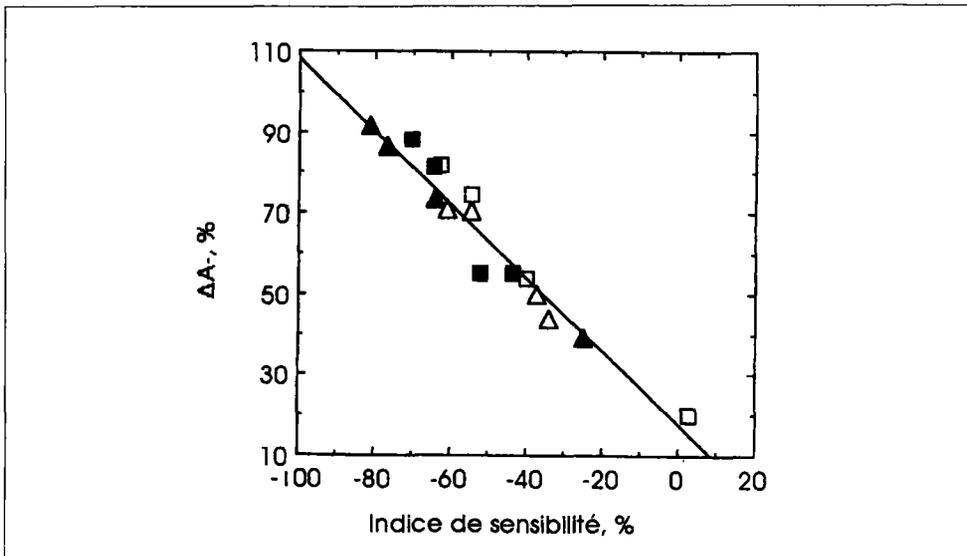
$$\Delta A^- = \frac{J(A^-)_{\text{témoin}}}{J(A^-)_{\text{NaCl}}}$$

où $J(A^-)_{\text{témoin}}$ et $J(A^-)_{\text{NaCl}}$ sont les quantités d'anions autres que Cl^- accumulées dans la feuille pendant l'expérience, sur milieu témoin et en présence de NaCl :

$$J(A^-) = \sum J(\text{K}^+ + \text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}) - J(\text{Cl}^-)$$

Le paramètre ΔA^- , calculé sur les feuilles ou sur la plante entière, est en général bien corrélé avec la diminution de production de matière sèche sur milieu salé (Lachaâl, 1992 ; Lachaâl *et al.* 1995) : plus la plante est sensible au sel, plus ce paramètre est élevé (Figure 7).

Figure 7. Déficit anionique et sensibilité des plantes au sel. Le déficit anionique ΔA^- est une mesure de l'inhibition de l'approvisionnement des tissus en anions nécessaires à la croissance (cf. le texte). L'indice de sensibilité est calculé à partir des quantités Q de matière sèche produites sur milieux contenant NaCl 10 ou 36 mM : $IS = 100 (Q_{36} - Q_{10})/Q_{10}$. Les différents symboles correspondent à 4 populations de lentille.



En résumé, les exemples cités dans ce paragraphe suggèrent que le sel inhibe la croissance en limitant l'approvisionnement des feuilles en nutriments essentiels. On est donc amené à se demander si les réductions de croissance en présence de sel sont dues à un effet « toxique » des ions Na^+ et Cl^- accumulés dans les feuilles, ou bien aux restrictions de la nutrition minérale de ces dernières qu'impose le sel dans le milieu.

DISTINCTION DES EFFETS DES IONS Na^+ ET Cl^- DANS LE MILIEU ET DANS LES TISSUS FOLIAIRES

Les expériences d'alimentation mixte permettent de séparer les effets de l'envahissement des feuilles par Na^+ et Cl^- de ceux du déficit de l'approvisionnement minéral de la plante (Hajji, 1980).

Des plantes d'abord cultivées sur milieu témoin (sans NaCl) sont disposées ensuite avec la moitié de leur système racinaire dans un milieu additionné de sel (par exemple 100 ou 200 mM), et l'autre moitié restant dans le milieu témoin. Deux autres cultures sont conduites simultanément, avec des plantes dont tout le système racinaire plonge dans des milieux nutritif témoin, ou additionné de NaCl aux mêmes concentrations que celles utilisées en alimentation mixte. Ces deux cultures sont les deux témoins qui permettent d'apprécier l'effet de l'alimentation mixte sur la croissance.

Le tableau 1 montre que l'alimentation mixte élimine totalement l'effet dépressif du milieu salé sur la croissance des feuilles même lorsque les quantités de Na (et de Cl) qui parviennent aux feuilles sont importantes. Il n'y a pas de correspondance entre les accumulations de Na^+ (et de Cl^-) et la croissance de ces organes. Toutes les expériences de ce type conduisent aux mêmes conclusions (Hajji, 1980 ; 1983 ; Soltani, 1988) :

1. Ce dispositif d'alimentation mixte assure simultanément aux feuilles un approvisionnement normal en ions essentiels (par exemple en K^+ , Tableau 1) et une forte accumulation de Na^+ et Cl^- .
2. Il permet d'obtenir une croissance identique ou parfois supérieure à celle des plantes cultivées sur milieux témoin sans NaCl.

Tableau 1 : Croissance et accumulation ionique en alimentation mixte.

Paramètres	Laurier-rose			Haricot			Orge		
	Témoin	Mixte	NaCl	Témoin	Mixte	NaCl	Témoin	Mixte	NaCl
MS, % du témoin	100	100	58	100	76	40	100	108	75
Na^+ , $\mu\text{eq/g MS}$	traces	1150	1540	traces	414	117	33	1932	2835
K^+ , $\mu\text{eq/plante}^{(a)}$	41	45	28	27	21	9	162	136	94

(a) Quantité de K^+ accumulée dans la totalité des feuilles d'une plante.

Les plantes sont cultivées avec une partie du système racinaire dans un milieu témoin (sans NaCl), et l'autre partie dans un milieu contenant NaCl 100 mM (haricot) ou 200 mM (laurier-rose et orge). Au début du traitement les plantes sont âgées de 15 jours (haricot), 1 mois (orge) ou 1 mois et demi (laurier-rose). La durée du traitement est de 10 jours. Les paramètres concernent les feuilles.

Ces résultats démontrent que la forte accumulation foliaire de Na^+ et de Cl^- n'est pas responsable de la réduction de la croissance (Hajji, 1980 ; Cramer *et al.* 1994). Le dispositif mixte, en autorisant une alimentation ionique correcte de la plante par les racines placées dans le milieu témoin, élimine totalement les effets inhibiteurs du sel sur la croissance. C'est donc le sel du milieu qui perturbe l'alimentation minérale de la plante.

CONCLUSION

Même chez les plantes sensibles à la salinité, l'accumulation de Na^+ et de Cl^- en quantités importantes dans les feuilles peut être compatible avec la croissance à condition que la fourniture d'autres éléments indispensables à la croissance soit assurée. Les différents exemples cités ci-dessus montrent que la sensibilité des plantes est due à l'inhibition par le sel des transports des éléments nutritifs, et non aux effets toxiques des ions Na^+ et Cl^- accumulés en excès dans les feuilles.

Bibliographie

1. CRAMER G.R., ALBERICO G.J., SCHMIDT C. 1994 Salt tolerance is not associated with the sodium accumulation of two maize hybrids. *Aust. J. Plant Physiol.* 21: 675-692.
2. HAJJI M. 1980. La responsabilité de la racine dans la sensibilité du Laurier-rose au chlorure de sodium. *Physiol. Vég.* 18: 505-515.
3. HAJJI M. 1983 Mécanismes des effets du milieu salé sur la nutrition minérale d'une plante rupicole : interactions des transports d'ions et d'eau chez le laurier-rose. Thèse de Doctorat d'État, Faculté des Sciences de Tunis, 278 p.
4. LACHAAL M. 1992. Exploration de la variabilité de la tolérance au sel chez la lentille (*Lens culinaris* L.). Thèse de Spécialité, Faculté des Sciences de Tunis, 163 p.
5. LACHAAL M., ABDELLY C., SOLTANI A., HAJJI M., GRIGNON C. 1995. Réponses physiologiques de quelques légumineuses spontanées et cultivées à la contrainte saline. In *Facteurs Limitant la Fixation Symbiotique de l'Azote en Zones Méditerranéennes.*, J.-J. Drevon éd. Éditions INRA, pp 93-109.
6. LESSANI H., MARSCHNER H. 1978. Relation between salt tolerance and long distance transport of sodium and chloride in various crop species. *Aust. J. Plant Physiol.* 5: 27-37.
7. MAAS E.V. 1986. Salt tolerance of plants. *Appl. Agric. Res.* 1 : 12-26.
8. SOLTANI A. 1988. Analyse des effets du chlorure de sodium et de la source d'azote sur la nutrition minérale de l'orge. Thèse de Doctorat d'État, Faculté des Sciences de Tunis, 322 p.

C4 : Transfert de caractères de résistance au *Verticillium* chez la Pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) par fusion interspécifique de protoplastes avec *S. tarijense* Hawkes

**JADARI R.¹, ELMESBAHI L.¹, GERUNGAN R.F.I.², MUSSIO I.²,
ELLOUZ O.³, LAKHOUA L.³, AMBROISE A.², SERVAES A.²,
DUCREUX G.², SIHACHAKR D.²**

* Laboratoire de Phytogénétique et de Biotechnologies, Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II (IAVH), Rabat Institut, BP 6202, Rabat, Maroc ; télécopie : +212 7 77 71 19

** Morphogenèse Végétale Expérimentale, Bât. 360, Université Paris Sud, 91405 Orsay Cedex, France ; télécopie : +33 (0)1 69 85 54 90, e.mail : dara.sihachakr@mve.u-psud.fr

*** Laboratoire de Culture *in vitro*, École Nationale d'Ingénieurs de Sfax (ENIS), BP " W ", 3038 Sfax, Tunisie ; télécopie : +216 4 27 55 95

INTRODUCTION

Le flétrissement dû au champignon *Verticillium dahliae* est une des maladies graves de la Pomme de terre, mais il frappe également d'autres plantes cultivées dans des régions tempérées (Platt et Sanderson 1987 ; Sihachakr et al. 1996). Son développement est particulièrement favorisé par la présence de nématodes. Il cause de lourdes pertes de rendement et affecte notamment la qualité des tubercules. Il n'existe pas de variétés de Pomme de terre totalement résistantes. Quelques unes, en particulier les variétés Katahdin, Targee et Désiré ne sont que tolérantes à l'infection du champignon (Sihachakr et al. 1996). Des caractères de résistance au *Verticillium* ont été identifiés chez quelques espèces sauvages de *Solanum*, notamment *S. berthaultii*, *S. phureja*, *S. torvum* et en particulier *S. tarijense*, mais l'introgession de gènes de résistance est limitée par des incompatibilités sexuelles partielles ou totales avec la Pomme de terre cultivée. Pour contourner les incompatibilités sexuelles, l'hybridation somatique par fusion de protoplastes a été utilisée afin de réaliser des combinaisons génomiques avec des espèces sauvages, irréalisables par les moyens conventionnels (Sihachakr et al. 1994 ; Pehu 1996). Ainsi, à partir de fusion entre des génotypes dihaploïdes de pomme de terre, des hybrides somatiques intraspécifiques ont été régénérés à l'état tétraploïde hétérozygote, nécessaire pour retrouver la vigueur et la performance (Debnath et Wenzel 1987 ; Chaput et al. 1990). De plus, des caractères de tolérance au froid à partir de *S. brevidens* (Preisznner et al. 1991), à la salinité à partir de *Lycopersicon pennellii* (Serraf et al. 1994), ceux de la résistance aux virus (PLRV et PVY) à partir de *S. brevidens* (Austin et al. 1985 ; Gibson et al. 1988), aux insectes à partir de *S. berthaultii* (Serraf et al. 1991), et à la verticilliose à partir de *S. torvum* (Jadari et al. 1992), ainsi qu'au *Phytophthora* (Cooperbland et al. 1996) et aux nématodes (Mojtahedi et al. 1995 ; Rasmussen et al. 1996) ont été introduits avec succès dans la pomme de terre cultivée.

Dans cette étude, nous avons réalisé l'hybridation somatique par électrofusion de protoplastes dans le but d'élargir la variabilité génétique et d'introduire des caractères de résistance au *Verticillium* à partir de l'espèce sauvage, *S. tarijense*, dans la pomme

de terre. Le partenaire sauvage de fusion a été choisi parmi les clones les plus résistants de *S. tarijense* suite à des tests de résistance *in vitro* en utilisant le filtrat brut de culture du champignon.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Matériel végétal

Un clone dihaploïde de pomme de terre, var. Cardinal à tubercules à peau rouge ($2n = 2x = 24$ chromosomes), et un clone résistant d'une espèce sauvage apparentée tubérifère et diploïde, *Solanum tarijense* ($2n = 2x = 24$ chromosomes), ont été multipliés par repiquages successifs *in vitro* de nœuds selon la méthode de Chaput et al. (1990).

Isolement de protoplastes et régénération de plantes

Le protocole d'isolement de protoplastes et de régénération de plantes a été précédemment décrit (Chaput et al. 1990). Des mésophylles prélevés sur des plantes *in vitro* âgées de 3-4 semaines ont été scarifiés et mis en incubation dans une solution enzymatique composée de sels minéraux (Frearson et al. 1973), de 0,5 % (m/v) de Cellulase RS, de 0,05 % (m/v) de Pectolyase Y23 et de 0,5 M de mannitol, le pH étant ajusté à 5,5. Après une période de digestion de 16 h à 27°C et à l'obscurité, les protoplastes ont été purifiés et rincés respectivement dans une solution de saccharose à 21 % (m/v), et une solution de rinçage contenant 0,5 M de mannitol et 0,5 mM de CaCl_2 .

Les protoplastes fusionnés ont été cultivés dans le milieu liquide VKM (Binding et al. 1978) additionné de 250 mg/l de polyéthylène glycol (PEG), de 0,2 mg/l d'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique (2,4-D), de 0,5 mg/l de zéatine et de 1 mg/l d'acide α -naphthalèneacétique (ANA). La pression osmotique est assurée par l'ajout de 0,18 M de glucose et de 0,18 M de mannitol.

Les cals suffisamment développés ont été repiqués dans le milieu de régénération MS (Murashige et Skoog 1962) contenant notamment 2 mg/l de zéatine et 0,1 mg/l d'acide indole-3-acétique (AIA).

Protocole d'électrofusion

L'appareillage d'électrofusion et le protocole de fusion ont été précédemment décrits (Sihachakr et al. 1988). Brièvement, la chambre de fusion, constituée d'électrodes parallèles, est placée au fond d'une boîte de pétri (15 x 50 mm) contenant environ 600-700 μl d'un mélange, à parties égales, de protoplastes des deux parents. La densité des suspensions de protoplastes est ajustée à 4×10^5 protoplastes/ml. L'application d'un courant sinusoïdal de haute fréquence (1 MHz) pendant 15 s provoque l'alignement des protoplastes, assurant ainsi le contact membranaire nécessaire à la fusion cellulaire. La fusion est réalisée à la suite de l'application de 1-2 impulsions d'un champ électrique d'une amplitude de 1,2 KV/cm, pendant 40 μs chacune.

Tests de résistance *in vitro* à partir de filtrats bruts et en serre contrôlée

Des clones de *S. tarijense* ont été testés pour la résistance au filtrat brut du champignon selon la méthode précédemment décrite (Jadari et al. 1992). Des boutures nodales comportant un nœud et la feuille axillaire ont été repiquées dans des tubes à essais contenant 20 ml de milieu solide MS. Après 3 semaines de culture, on ajoute dans chaque tube 1 ml d'une solution constituée de 50 % d'eau stérile ou de filtrat brut du champignon.

Des tests à partir des inoculations artificielles à l'aide de spores de champignon ont été effectués en serre contrôlée sur les clones parentaux et hybrides. Les symptômes foliaires ont été notifiés selon des critères morphologiques en utilisant deux indices (Beye et Lafay, 1985), « Indice d'étendue des symptômes foliaires ou IESF » et « Indice d'altération foliaire ou IAF » qui reflètent respectivement la progression et la gravité de la maladie.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Electrofusion et culture des protoplastes

Sous l'effet du courant alternatif (230 V/cm ; 1 Mhz), les protoplastes migrent et s'alignent en chaînes parallèles, établissant ainsi le contact membranaire nécessaire à la fusion cellulaire. La fusion des protoplastes alignés se produit dès l'envoi des impulsions de courant continu. Le taux de fusion est estimé à environ 40 % de l'ensemble du mélange de protoplastes après l'application de 2 impulsions du courant continu (1200 V/cm pendant 40 μ s chacune, Jadari et al. 1992).

Il est intéressant de noter que le comportement des protoplastes est peu affecté par les traitements électriques lors du processus d'électrofusion. Cultivés dans le milieu VKM (Binding et al. 1978), plus de 90 % des protoplastes issus du traitement d'électrofusion synthétisent leur paroi cellulaire après 48 h de culture, identifiables grâce à la perte de la forme sphérique des protoplastes. Les premières divisions cellulaires n'apparaissent qu'après 4-5 jours de culture. Globalement pour l'ensemble des fusions réalisées, environ 45 % des protoplastes traités ont survécu, et dont 20 %, soit 9,0 % des protoplastes initialement mis en culture, ont subi des divisions soutenues aboutissant à la formation de microcals visibles à l'œil nu après 2 semaines de culture. Après 2 à 3 semaines de culture, afin d'éviter le brunissement des microcals, et de stimuler leur croissance, les cultures ont été diluées 10 fois dans le milieu VKM dont les régulateurs de croissance ont été remplacés par 0,2 mg/l de 2,4-D et 2 mg/l de BAP. Les microcolonies se développent rapidement en cals. Cependant, un séjour trop prolongé, au-delà de 6-8 semaines, dans le milieu de dilution conduit à l'arrêt de croissance des cals dont certains brunissent et meurent quelques semaines plus tard. Le maintien d'une croissance rapide et soutenue de cals nécessite leur transfert, à l'aide d'une pipette de 5 ml, sur du milieu MS (Murashige et Skoog 1962) solide contenant des vitamines (Morel et Wetmore 1951), 20 g/l de saccharose, 7 g/l d'agar et 0,5 mg/l zéatine et 0,5 mg/l de d'ANA. Sur le milieu de croissance, on peut observer plusieurs types de comportement de cals. Trois à 4 semaines plus tard, les cals les plus développés, et dont la taille atteint 3-4 mm, sont transférés sur le milieu de régénération contenant notamment 2 mg/l de zéatine et 0,1 mg/l d'AIA. Les premiers bourgeons régénérés, à raison d'1 à 3 par cal régénérant, sont apparus après 4 semaines sur le milieu de régénération. Ceux ayant développé 2 à 3 feuilles étalées sont prélevés et multipliés dans du milieu MS pour des analyses ultérieures.

Identification des hybrides somatiques

La sélection précoce des hybrides somatiques putatifs est basée sur la vigueur des plantes régénérées qui s'expriment notamment à travers une régénération précoce (Sihachakr et al. 1994). Elle est également basée sur les caractères morphologiques intermédiaires des hybrides. La sélection précoce des hybrides somatiques, utilisant la vigueur des plantes comme critères de sélection, a été appliquée avec succès pour isoler notamment des hybrides somatiques de pomme de terre et d'aubergine (Chaput et al. 1990, Jadari et al. 1992 ; Serraf et al. 1991, 1994 ; Daunay et al. 1993 ; Sihachakr

et al. 1994, 1996). Dans cette étude, plus d'une centaine de plantes ont été régénérées à partir de plusieurs expériences de fusion, et parmi lesquelles seulement une trentaine ont été retenues répondant aux critères de sélection précoce. Finalement, 23 plantes sélectionnées ont été identifiées comme des hybrides putatifs. L'analyse cytologique révèle que 20 plantes sont tétraploïdes avec $2n = 4x = 48$ chromosomes, 3 aneuploïdes avec un nombre de chromosomes proche de 48. Ces résultats sont en accord avec des travaux antérieurs concernant le niveau tétraploïde des plantes obtenues (Chaput et al. 1990 ; Serraf et al. 1991, 1994 ; Sihachakr et al. 1994). Cette situation serait probablement due à l'utilisation des tissus différenciés, tels que des feuilles, comme source de protoplastes, alors qu'une variation plus importante du niveau de ploïdie est obtenue à partir de culture de protoplastes de suspensions cellulaires (Schieder et Kohn 1986 ; Sihachakr et al. 1994). Les plantes hybrides putatives sont vigoureuses et ont un bon enracinement. Elles présentent une morphologie intermédiaire des deux parents. Leur nature hybride est confirmée par l'analyse des isoenzymes, notamment les estérases (Est) et les phosphoglucomutases (Pgm) montrant des bandes complémentaires des profils parentaux.

Analyse des hybrides somatiques

Afin d'étudier leur comportement, huit clones d'hybrides somatiques et les deux parents ont été évalués pour leur capacité à tubériser *in vitro* et en serre, ainsi que pour la résistance au champignon.

Des essais de microtubérisation ont été effectués en bocaux en conditions inductives de tubérisation *in vitro*, comprenant notamment une concentration élevée en glucose (60 g) et l'obscurité. En moyenne, les clones hybrides forment 5 tubercules par plante, dont 3 ont un calibre supérieur à 5 mm et pesant 322 mg/tubercule ; alors les parents n'en produisent que 3 par plante, dont 1 seul mesure plus de 5 mm de diamètre avec une masse moyenne de 120 mg/tubercule (**tableau 1**).

Tableau 1 : Calibrage des microtubercules des parents, *S. tarijense* et *S. tuberosum*, et de leurs hybrides somatiques, obtenus à partir des essais effectués en bocaux.

Calibrage	Microtubercules Ø > 5 mm > Nombre * Masse (g)	Microtubercules 3.5 < Ø < 5 mm > Nombre * Masse (g)
<i>S. tarijense</i>	1 0,153	0 -
<i>S. tuberosum</i>	1	4
Var. cardinal	0,087	0,043
HS 5a	7 0,757	2 0,169
HS 11b	3 0,312	1 0,113
HS 12c	3 0,279	2 0,208
HS 16b	1 0,277	3 0,058
HS 17a	6 0,194	3 0,046
HS 12a	2 0,221	1 0,088
HS 31a	2 0,377	1 0,036
HS 35a	3 0,159	3 0,059

En conditions de serre, les plantes hybrides ont un développement et une croissance plus rapides et sont plus vigoureuses que les parents. En effet, la taille et la masse totale de la partie aérienne des plantes hybrides sont nettement supérieures respectivement de 1,20 et 3 fois à celles des parents (**tableau 2**). Dans les conditions de serre, les clones parentaux et hybrides sont capables de tubériser. Les tubercules de *S. tarijense* et de pomme de terre var. Cardinal ont respectivement la peau jaune et rose foncé ; alors que la couleur des tubercules de la majorité des hybrides varie du rose au violet, montrant ainsi leur caractère hybride. Les clones hybrides ont un rendement moyen en tubercules 2 à 3 fois supérieur à celui des parents, avec une masse moyenne de 12,6 g/tubercule (**tableau 2**).

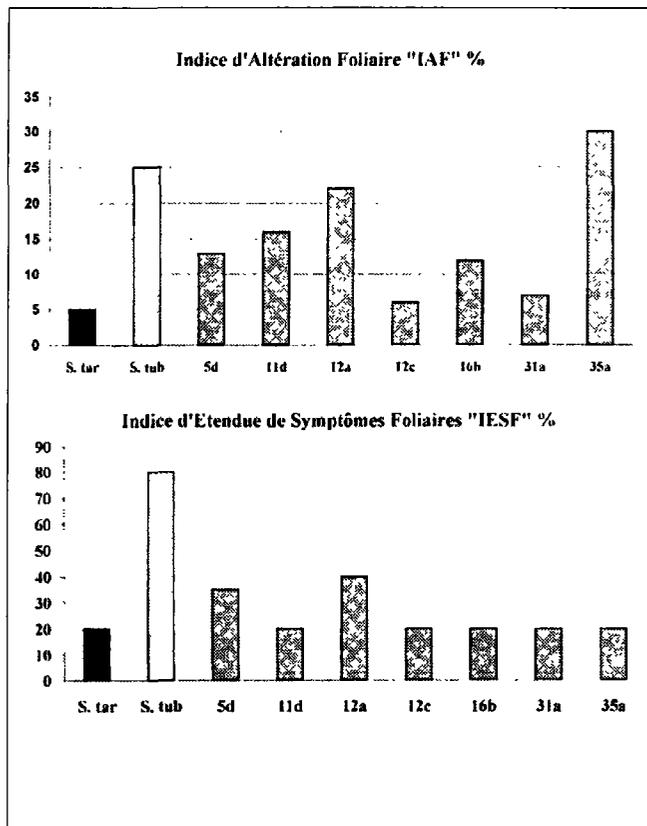
Des inoculations artificielles ont été réalisées en serre contrôlée à partir de spores du champignon. Le degré de résistance a été évalué à l'aide de deux indices des symptômes foliaires, indice d'altération foliaire « IAF » et indice d'étendue des symptômes foliaires « IESF » qui reflètent l'état des plantes infectées. L'indice IAF rend compte de la gravité de la maladie. En effet, cet indice indique que le parent sauvage est résistant car seulement 5 % des feuilles présentent les symptômes de la maladie ; alors que le parent cultivé est assez sensible. Quelques clones hybrides sont résistants, notamment les clones 5d, 12c, 16b, 31a, avec en moyenne 7 % de feuilles atteintes. Le 2^e indice, IESF, rend compte de la progression de la maladie sur la plante. Apparemment tous les hybrides testés semblent être résistants, car leur indice IESF est comparable à celui du parent sauvage, estimé à 20 % (**figure 1**). Chez le parent pomme de terre, on constate que la maladie a bien progressé, car 80 % de la plante présente les symptômes.

Tableau 2 : Caractéristiques de la partie aérienne de la plante et des tubercules obtenus.

Caractères	Partie aérienne des plantes		Tubercules		
	Clones	Hauteur (cm)	Nbre de tiges formées	Masse totale/plante (g)	Masse moy. (g)
<i>S. tarijense</i>	52,7	5	15,7	2,6	Jaune
<i>S. tuberosum</i>	34,7	3	27,4	2,7	Rose foncé
Cardinal					
HS 5a	72	3	140	28	Rose
HS 11b	55,5	6	74,7	14,9	Violet
HS 12c	47,2	4	56	8,7	Rose
HS 16b	64	7	43	14,3	Rose
HS 17a	44,3	5	25	6	Jaune
HS 12a	39	1	26	7	Violet
HS 31a	49,3	7	47,0	7,7	Rose
HS 35a	51	4	72	14,2	Rose

Les résultats du test de résistance réalisé en serre contrôlée à l'aide de spores du champignon confirment ceux effectués *in vitro* à partir du filtrat brut sur le degré de résistance du parent sauvage. Ils montrent ainsi la validité du test *in vitro* et l'efficacité de l'hybridation somatique pour l'introgession des caractères de résistance indépendamment des contraintes de la reproduction sexuée (Jadari et al. 1992 ; Sihachakr et al. 1994 ; 1996).

Figure 1. Test de résistance *in vitro* au filtrat brut de *Verticillium dahliae* ; S. tar : *Solanum tarijense* ; S. tub. : *S. tuberosum*, var. Cardinal ; 5d-35a : hybrides somatiques.



CONCLUSION

En conclusion, pour l'amélioration de la pomme de terre, les techniques de fusion de protoplastes sont très prometteuses pour l'obtention rapide de nouvelles combinaisons génomiques entre la pomme de terre cultivée et des espèces sauvages apparentées ayant des caractères de résistance intéressants. Nous avons montré dans cette étude que les hybrides somatiques obtenus sont très vigoureux et ont des performances bien supérieures à celles des parents. De plus, ils sont tous résistants au *Verticillium dahliae*. La généralisation de ces techniques d'hybridation somatique, combinée avec les méthodes conventionnelles, devrait aboutir à la création de nouvelles variétés plus performantes de pomme de terre.

Ce travail a été réalisé grâce au soutien financier du Comité Mixte de Coopération Universitaire (CMCU) (Coopération Franco-Tunisienne) et du Fonds International de Coopération Universitaire (FICU) (AUPELF-UREF)

Bibliographie

1. AUSTIN S., BAER M.A., HELGESON J.P. (1985) Transfer of resistance to potato leaf roll virus from *Solanum brevidens* into *Solanum tuberosum* by somatic fusion. *Plant Sci* 39 :75-82.
2. BEYE I., LAFAY J.F. (1985) Étude de critères pour une réponse générale à la verticilliose chez la Tomate. *Agronomie* 5 :305-311.
3. BINDING H., NEHLS R., SCHIEDER O., SOPORY S.K., WENZEL G. (1978) Regeneration of mesophyll protoplasts isolated from dihaploid clones of *Solanum tuberosum*. *Physiol Plant* 43 :52-54.
4. CHAPUT M.H., SIHACHAKR D., DUCREUX G., MARIE D., BARGHI N. (1990) Somatic hybrid plants produced by electrofusion between dihaploid potatoes : BF15 (H1), Aminca (H6) and Cardinal (H3). *Plant Cell Rep* 9 :411-414.
5. COOPERBLAND S., DEMAINE M.J., STEWART H.E., FLEMING M.L.M.H., PHILLIPD M S , KUMAR A. (1996) Interspecific somatic and sexual hybridization between dihaploid lines of *Solanum tuberosum* L. Evaluation of morphological traits and resistance to late blight *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary in the foliage. *Euphytica* 90 : 209-216.
6. DAUNAY M.C., CHAPUT M.H., SIHACHAKR D., ALLOT M., VEDEL F., DUCREUX G. (1993) Production and characterization of fertile somatic hybrid plants of eggplant (*Solanum melongena* L.) with *Solanum aethiopicum* L. *Theor Appl Genet* 85: 841-850.
7. DEBNATH S.C., WENZEL G. (1987) Selection of somatic fusion products in potato by hybrid vigour. *Potato Res* 30 :371-380.
8. FREARSON E.M., POWER J.B., COCKING E.C. (1973) the isolation, culture and regeneration of *Petunia* leaf protoplasts. *Dev Biol* 33 :130-137.
9. GIBSON R.W., JONES M.G.K., FISH N. (1988) Resistance to potato leaf roll virus and potato virus Y in somatic hybrids between dihaploid *Solanum tuberosum* and *S. brevidens*. *Theor Appl Genet* 76 : 113-117.
10. JADARI R., SIHACHAKR D., ROSSIGNOL L., DUCREUX G. (1992) Transfer of resistance to *Verticillium dahliae* Kleb. from *Solanum torvum* SW into potato (*Solanum tuberosum* L.) by protoplast electrofusion. *Euphytica* 64 :39-47.
11. MOJTAHEDI H., BROWN C.R., SANTO G.S. (1995) Characterization of resistance in a somatic hybrid of *Solanum bulbocastanum* and *Solanum tuberosum* to *Meloidogyne chitwoodi*. *J Nematology* 27 : 86-93.
12. MOREL G., WETMORE R.H. (1951) Fern callus tissue culture. *Am. J. Bot.*, 38:141-143.
13. MURASHIGE T., SKOOG F. (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15 : 473-497.
14. PEHU E. (1996) The current status of knowledge on the cellular biology of potato. *Potato Res* 39 : 429-435.
15. PLATT H.W., SANDERSON J.B. (1987) Comparison methods for field studies of varietal response to *Verticillium* wilt potatoes. *Am Potato J* 64 :87-92.
16. PREISZNER J., FEHÉR A., VEISZ O., SUTKA J., DUDITS D. (1991) Characterization of morphological variation and cold résistance in interspecific somatic hybrids between potato (*Solanum tuberosum* L.) and *S. brevidens* Phil. *Euphytica* 57 :37-49.
17. RASMUSSEN J.O., NEPPER J.P., RASMUSSEN O.S. (1996) Analysis of somatic hybrids between 2 sterile dihaploid *Solanum tuberosum* L. breeding lines ; restoration of fertility and complementation of *Globodera pallida* Pa2 and Pa3 resistance. *Theor Appl Genet* 92 : 403-410.
18. SCHIEDER O., KOHN H. (1986) Protoplast fusion and generation of somatic hybrids. In : *Cell Culture Somatic Cell Genetics of Plants*, I.K. Vasil (eds) Academic Press, pp 569-596.
19. SERRAF I., SIHACHAKR D., BROWN S., BARGHI N., DUCREUX G., ROSSIGNOL L (1991) Interspecific somatic hybridization in potato by electrofusion. *Plant Sci* 76 : 115-126.
20. SERRAF I., TIZROUTINE S., CHAPUT M.H., ALLOT M., MUSSIO I., SIHACHAKR D , ROSSIGNOL L., DUCREUX G. (1994) Production and characterization of intergeneric somatic hybrids through protoplast electrofusion between potato (*Solanum tuberosum* L.) and *Lycopersicon pennellii*. *Plant Cell Tissue Org Cult* 37: 137-144.
21. SIHACHAKR D., HAÏCOUR R., SERRAF I., BARRIENTOS E., HERBRETEAU C , DUCREUX G., ROSSIGNOL L., SOUVANNAVONG V. (1988) Electrofusion for the production of somatic hybrid plants of *Solanum melongena* L. and *Solanum khasianum* CV Clark *Plant Sci* 57 :215-223.

22. SIHACHAKR D., DAUNAY M.C., SERRAF I., CHAPUT M.H., MUSSIO I., HAICOUR R., ROSSIGNOL L., DUCREUX G. (1994) Somatic hybridization of eggplant (*Solanum melongena* L.) with its close and wild relatives. In : Bajaj YPS (ed) Biotechnology in agriculture and forestry, Vol 27, Somatic hybridization in crop improvement I. Springer, Berlin Heidelberg New York, pp255-278.
23. SIHACHAKR D., JADARI R., KUNOTHAI-MUHSIN A., ROSSIGNOL L., HAICOUR R., DUCREUX G. (1996) *In vitro* production of *Verticillium dahliae*-resistant potato plants. In : YPS Bajaj (ed) Biotechnology in agriculture and forestry, Vol 36, Somaclonal variation in crop improvement II, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, pp119-131.

C5 : Typage moléculaire de variétés tunisiennes de palmier dattier en relation avec la résistance au bayoud

**TRIFI M.¹, BENSLIMANE A.A.², RHOUMA A.³,
MARRAKCHI M.¹, RODE A.⁴**

¹ Laboratoire de génétique, Faculté des Sciences de Tunis, Tunisie

² Faculté des Sciences Semlalia, Marrakech, Maroc

³ INRA, CRP Degache, Tunisie

⁴ Laboratoire BMV III, IBP, Bat. 630, UPS, Orsay, France

INTRODUCTION

Le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) joue un rôle important dans la stabilité socio-économique des régions oasiennes de l'Afrique du nord. Cependant, depuis quelques décennies, la phoéniculture est fortement menacée de disparition à cause d'une maladie cryptovasculaire appelée le « bayoud ». Cette maladie est causée par un champignon imparfait : *Fusarium oxysporum f.sp. albedinis*. Probablement d'origine marocaine (vallée du Drâa), cette fusariose a ravagé les 3/4 de la palmeraie marocaine. Actuellement, le bayoud sévit dans l'ouest algérien. Sa progression constitue une menace, sans cesse permanente, pour les palmeraies de l'Est algérien et celles de la Tunisie et ce en dépit des moyens de lutte mobilisés contre l'agent pathogène (Djerbi, 1982 et 1985).

Par ailleurs, la détection, dans les régions où la fusariose est endémique, de cultivars spontanément résistants au champignon n'a pu satisfaire aux exigences agronomiques des phoéniculteurs (Saaidi, 1979 et 1992 ; Sedra, 1992). En effet, outre le faible nombre des cultivars résistants, ces derniers présentent des dattes de qualité moyenne à médiocre. Ainsi la recherche de marqueurs moléculaires de la résistance à la fusariose serait d'un apport considérable dans l'élaboration d'un programme efficace de sélection de nouvelles variétés résistantes et de bonne qualité dattière. Dans cette optique, les marqueurs biochimiques (en particulier des protéines enzymatiques) se sont avérés insuffisants (Baaziz et al. 1990 ; Bennaceur et al. ; 1991). D'autres travaux récents (Benslimane et al., 1994 ; Benslimane 1995) ont permis de mettre en évidence la présence de plasmides circulaires, appelés S (1454 pb) et R (1346pb), dans les mitochondrie de vitroplantes de palmier dattier. Ces mêmes travaux suggèrent que ces plasmides mitochondriaux pourraient représenter les marqueurs recherchés. En effet, le plasmide S est présent particulièrement dans les mitochondries des plantes sensibles alors que le plasmide R ne l'est que dans celles qui sont résistantes à l'agent pathogène.

Il est donc intéressant de rechercher ces plasmides chez les variétés et cultivars tunisiens de palmier dattier. Pour ce faire, la technique de la réaction enzymatique de polymérisation en chaîne (PCR) a été utilisée. En effet, grâce à sa très grande sensibilité, cette technique est actuellement devenue un outil puissant permettant de générer des séquences spécifiques amplifiées à partir d'une très faible quantité d'ADN cible (Saiki et al., 1985 ; Weining et Langridge, 1991).

Dans ce travail, seront présentés les résultats de l'analyse des produits d'amplification, par PCR, grâce à l'utilisation d'un jeu d'oligonucléotides appropriés permettant d'identifier sans ambiguïté chaque type de plasmide mitochondrial présent dans la plante.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Matériel biologique :

Les variétés et cultivars tunisiens de palmier dattier utilisés sont décrits dans le **tableau 1**. Le matériel végétal, composé de jeunes palmes, provenant du Centre de Recherche Phoénicole, INRA de Degache, situé dans le sud tunisien. La nomenclature des variétés et cultivars utilisés est celle établie par Rhouma (1994).

Tableau 1 : Variétés et cultivars tunisiens de palmier dattier (nomenclature selon Rhouma 1994).

Var. n°	Nom commercial	Origine
01	Deglet Bey	Degache
02	Boufagous	Tozeur
03	Khalt Boufagous	Degache
04	Ftimi	Djerid
05	Khouat Ftimi	Djerid
06	Kenta	Djerid
07	Kentichi	Djerid
08	Gondi	Tozeur
09	Ammari	Djerid
10	Lagou	Djerid
11	Besser Hlou	Djerid
12	Antiche	Djerid
13	Tazerzit Noire	Degache
14	Deglet Nour	Degache
15	Okht Deglet	Degache
16	Okht Gondi	Degache
17	Zehdi	Tozeur
18	Hlaoui	Degache
19	Ghars Mtig	Djerid
20	Hourra	Djerid
21	Rhimia	Degache
22	Tronja	Djerid
23	Khad Khadem	Tozeur
24	Tazerzit Jaune	Degache
25	Arichti	Degache

Extraction de l'ADN

Les acides nucléiques ont été préparés à partir de jeunes feuilles préalablement congelées dans de l'azote liquide. L'ADN cellulaire total est extrait selon la méthode décrite par Aitchitt et al. (1993) avec de légères modifications. Les ADN ainsi purifiés sont quantifiés par spectrophotométrie et leur qualité a été déterminée par migration électrophorétique sur minigel d'agarose selon la méthode de Sambrook et al. (1989).

Réaction enzymatique de polymérisation en chaîne

Cette réaction est faite grâce à deux oligonucléotides flanquant la séquence délétée du plasmide S (Benslimane 1995) de telle sorte que les fragments amplifiés seront de deux types : ceux qui correspondent au plasmide S et dont la taille est de 373 pb et ceux issus du plasmide R et dont la taille est de 264 pb (soit 373 - la taille du fragment délété de 109 pb)

Chaque réaction a été réalisée dans un volume de 100µl contenant : 25ng d'ADN cellulaire total ; 10µl de tampon de l'enzyme (10X) ; 1,5U de Taq DNA polymérase ; 200µM de chaque dNTP et 5OpM de chaque oligonucléotide. Un volume égal d'huile minérale est ajouté afin d'éviter l'évaporation du milieu réactionnel. La polymérisation est conduite dans un thermocycler programmé selon les conditions suivantes : le mélange réactionnel est d'abord porté à 94°C pendant 5 minutes avant d'entamer 35 cycles. Chaque cycle comporte : 30 sec. à 94°C pour la dénaturation 1 min à 48°C pour l'hybridation des amorces et 2 min à 72°C pour la synthèse. Une ultime étape de 10 min à 72°C a été programmée à la fin du dernier cycle de toutes les amplifications. La standardisation des expériences est assurée grâce à l'utilisation de deux témoins comprenant chacun de l'ADN plasmidique R ou S.

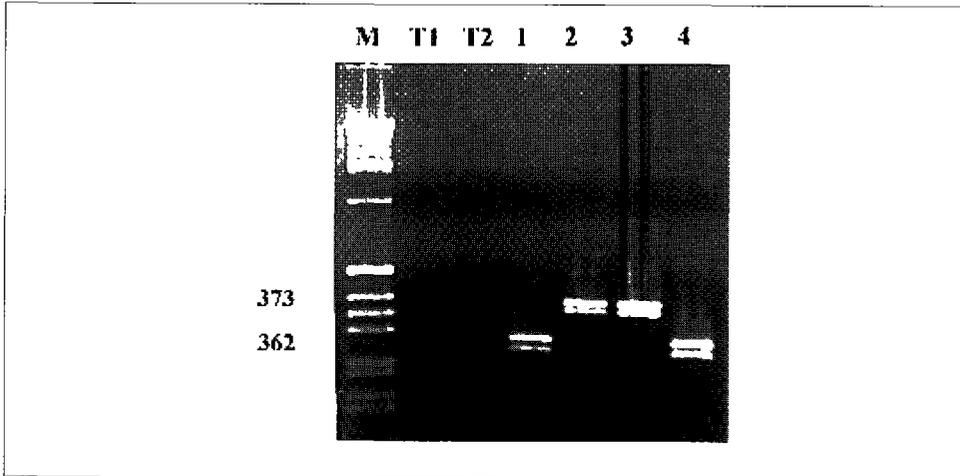
L'analyse des produits d'amplification a été faite par séparation électrophorétique sur gel d'agarose à 1,4 % et contenant du bromure d'éthidium (1 µg/ml) selon la méthode décrite par Sambrook et al. (1989).

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

Optimisation de la technique de polymérisation enzymatique en chaîne (PCR)

Afin d'optimiser les paramètres d'amplification des fragments attendus en utilisant les primers sus-indiqués, plusieurs réactions d'amplification ont été réalisées, faisant varier la température d'hybridation avec les amorces à partir de 38°C jusqu'à 52°C. Notons qu'au cours de ces expériences, seuls les ADN plasmidiques issus des clones R et S ont servi d'ADN cible. Les résultats montrent des produits amplifiés dont la taille et le nombre varient en fonction de la température d'hybridation. Ainsi pour des températures supérieures ou inférieures à 48°C, des produits d'amplification non spécifiques sont observés. Cependant des fragments correspondants aux plasmides recherchés sont obtenus pour une température égale à 48°C. Ainsi cette dernière température est considérée comme optimale pour amplifier spécifiquement des sous-fragments correspondants aux plasmides mitochondriaux R et S et dont les tailles respectives sont de 373pb et 264pb (**figure 1**).

Figure 1. Fragments amplifiés à partir des ADN plasmidiques R et S et de l'ADN cellulaire total issu de deux variétés de palmier dattier séparés sur gel d'agarose à 1,5 %.



M marqueur de poids moléculaire 1 KB ladder : témoins inclus mélange réactionnel sans ADN (T1) ou sans enzyme (T2) , fragment correspondant au plasmide R (piste 1) et au fragment S (piste 2) , fragment amplifié à partir de l'ADN cellulaire total des variétés Boufagous (piste 3) et de Zehdi (piste 4) La taille des fragments est exprimée en paire de bases

Mise en évidence des plasmides mitochondriaux chez les variétés tunisiennes de palmier dattier

Dans le but de mettre à profit la technique de PCR, décrite ci-dessus, afin de rechercher les plasmides R et S chez les variétés et cultivars tunisiens de palmier dattier, des réactions de polymérisation enzymatique sont réalisées en utilisant comme cible l'ADN cellulaire total extrait à partir de jeunes palmes. Les résultats obtenus montrent effectivement la présence de fragments amplifiés qui correspondent à ceux issus des ADN plasmidiques des clones R et S. En effet, les bandes amplifiées et visualisées après séparation électrophorétique sur gel d'agarose sont identiques à celles issues des plasmides R et S (**Figure 1**). Ainsi les conclusions suivantes peuvent être tirées :

- * Il est possible d'utiliser cette approche pour rechercher le type de plasmide présent dans les mitochondries d'une variété donnée.
- * Les mitochondries de la variété 1 hébergent le plasmide S alors que celles de la variété 2 hébergent le plasmide R.

Tenant compte de ces considérations, une étude similaire a été conduite en partant de l'ADN cellulaire total des variétés décrites précédemment. Les résultats obtenus sont rassemblés dans le **tableau 2**. L'analyse de ce tableau montre que, selon le type de plasmide présent dans les mitochondries, les variétés peuvent être regroupées en trois classes :

- * La première est composée des variétés : Deglet Bey, Boufagous, Khalt Boufagous, Kenta, Kentichi, Ftimi, Khouat Ftimi, Gondi, Ammari, Lagou, Besser Hlou, Antiche et Tazerzite Noire. Toutes ces variétés possèdent des mitochondries qui hébergent exclusivement le plasmide S.

- * La deuxième classe composée des variétés : Deglet Nour, Okht Deglet, Okht Gondi, Zehdi, Hlaoui et Ghars Mtig, montre exclusivement le plasmide R. Il s'agit de :
- * Le troisième groupe formé des variétés : Arichti, Rlhimia, Tronja, Khad Khadem et Tazerzite Jaune, présente en même temps les plasmides R et S.

Tableau 2 : Phénotype et profil plasmidique des variétés et cultivars tunisiens utilisés (* : phénotype d'après Saaidi, 1992 et Sedra, 1992).

Var n°	Nom commercial	Phénotype *	Plasmide
01	Deglet Bey	?	S
02	Boufagous	Sensible	S
03	Khalt Boufagous	?	S
04	Ftimi	Sensible	S
05	Khouat Ftimi	Sensible	S
06	Kenta	Sensible	S
07	Kentichi	Sensible	S
08	Gondi	Sensible	S
09	Ammari	?	S
10	Lagou	?	S
11	Besser Hlou	Sensible	S
12	Antiche	?	S
13	Tazerzit Noire	?	S
14	Deglet Nour	Sensible	R
15	Okht Deglet	?	R
16	Okht Gondi	?	R
17	Zehdi	?	R
18	Hlaoui	?	R
19	Ghars Mtig	?	R
20	Hourra	Sensible	R/S
21	Rhimia	?	R/S
22	Tronja	?	R/S
23	Khad Khadem	?	R/S
24	Tazerzit Jaune	?	R/S
25	Arichti	?	R/S

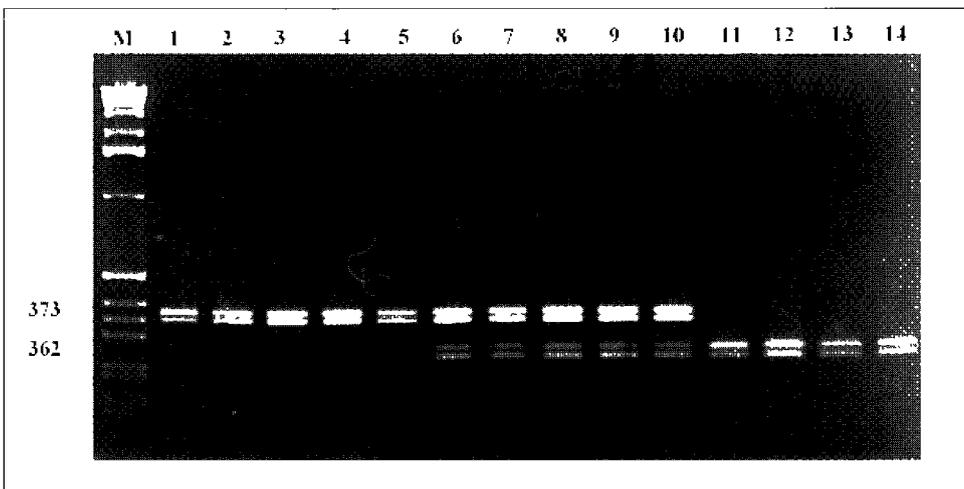
Ce résultat montre clairement l'existence d'un profil plasmidique mitochondrial qui diffère d'une variété à une autre. L'hypothèse d'un équilibre dynamique, probablement dû à des mécanismes de recombinaison intra et intermoléculaire, pourrait expliquer les variations observées. En effet, il a été démontré chez le palmier dattier que ces plasmides possèdent des séquences répétées directes qui, par recombinaison, peuvent générer des molécules subgénomiques (Benslimane 1995 et Benslimane et al. 1996). De même les propriétés recombinogènes des plasmides mitochondriaux ont été également mises en évidence chez d'autres espèces, en particulier chez la fève (Flamand et al., 1993) ainsi que chez *Neurospora intermedia* (Arganoza and Akins, 1995 ; Debets et al. ; 1995). Pour rendre compte du maintien des différentes formes plasmidiques mises en évidence chez l'ensemble des variétés testées, les hypothèses suivantes peuvent être avancées :

(i) La présence exclusive du plasmide S serait la conséquence d'une inhibition totale du mécanisme de recombinaison due à l'absence de potentialités d'expression de l'information nucléaire.

(ii) Par contre, la présence exclusive du plasmide R serait due au fait que les séquences répétées directes ont retrouvé leurs capacités recombinogènes permettant de générer le plasmide R et un fragment non autorépliatif de 109pb qui disparaîtra progressivement par dilution.

(iii) Enfin la présence simultanée des plasmides R et S chez certaines variétés suppose d'une part le maintien du fragment de taille 109pb et d'autre part que la recombinaison se fait aussi bien au niveau intra-moléculaire, grâce au jeu de séquences répétées directes du plasmide S, qu'au niveau intermoléculaire par l'intermédiaire du plasmide R et du fragment de taille 109 pb. Il en résulte plusieurs situations intermédiaires faisant qu'une forme plasmidique est en surnombre par rapport à l'autre. Les résultats obtenus montrent effectivement quelques unes de ces situations (**figure 2**). Toutefois la recherche du fragment de taille 109 pb permettrait de renforcer cette argumentation.

Figure 2. Exemple de produits d'amplification obtenus à partir de l'ADN cellulaire total issu des variétés tunisiennes de palmier dattier et séparés sur gel d'agarose à 1,5 %.



M marqueur de poids moléculaire 1 KB ladder, variétés présentant exclusivement le plasmide S (pistes 2 à 5) ou le plasmide R (pistes 11 à 13), variétés montrant la présence simultanée des plasmides R et S (pistes 6 à 10), amplifiat standard des plasmides S (piste 1) et R (piste 14) La taille des fragments est exprimée en paire de bases

Par ailleurs, la comparaison de ces résultats avec ceux décrits dans la littérature concernant le comportement des variétés tunisiennes de palmier dattier vis à vis du bayoud montre qu'à l'exception des variétés Deglet Nour et Hourra, l'hypothèse de la corrélation entre le type de plasmide présent et le phénotype de la plante est fortement soutenue. En effet, les variétés : Boufagous, Ftimi, Khouat Ftimi, Kenta, Kentichi, Gondi et Besser Hlou sont supposées être sensibles à l'agent pathogène (Saaidi, 1992 ; Sedra, 1992) et possèdent le plasmide S. Cependant les variétés Deglet Nour et Hourra, bien qu'elles soient sensibles au bayoud, présentent respectivement le plasmide R et les plasmides R et S. Les explications suivantes permettraient de rendre compte au moins en partie du comportement particulier de ces deux variétés :

(i) Deglet Nour et Hourra peuvent être considérées comme variétés présentant une résistance intermédiaire entre celles qui sont résistantes ou sensibles au bayoud

(Saaidi, 1992 ; Sedra, 1992) suggérant ainsi que l'évolution du phénotype sensible vers le phénotype résistant s'accompagnerait de la conversion de la forme plasmidique S vers la forme R.

(ii) La résistance n'a pas un déterminisme simple et serait sous un contrôle multigénique. Ainsi, selon les gènes impliqués dans l'acquisition de la résistance, les plasmides R et/ou S pourraient être considérés comme étant des marqueurs phénotypiques des plantes vis-à-vis de la maladie. D'ailleurs, la variété Deglet Nour, en manifestant peu de réaction immédiate à la présence du champignon après inoculation de jeunes plantes, témoignerait de la multiplicité des gènes impliqués dans la résistance à la fusariose (Matheron et Benbadis, 1990).

Quoi qu'il en soit, il semble que la présence de ces plasmides mitochondriaux n'est pas nécessairement impliquée dans la contribution du phénotype de la plante vis-à-vis du champignon. La résistance serait de ce fait au moins en partie adaptative comme en témoigne la persistance de quelques pieds de la variété Deglet Nour (~17 %) transplantés, au Maroc, dans des champs « bayoudés » après 25 années d'observation (Saaidi, 1992).

CONCLUSION

L'ensemble des données expérimentales basées sur l'utilisation de la technique de polymérisation enzymatique (PCR) montre que les variétés testées se regroupent en trois catégories : celles qui présentent exclusivement le plasmide S, celles qui montrent la présence du plasmide R seulement et celles dont les mitochondries hébergent simultanément les plasmides R et S. Des hypothèses permettant de rendre compte de la variabilité des formes plasmidiques ont été proposées.

En outre, la présence des plasmides décrits semble être en forte corrélation avec le phénotype de la plante vis-à-vis de l'agent pathogène. Les résultats présentés semblent être en accord avec l'hypothèse selon laquelle ces plasmides mitochondriaux seraient des marqueurs moléculaires de la résistance du palmier dattier au bayoud (Benslimane et al., 1994). Les travaux sont actuellement en cours dans le but de préciser la relation entre le comportement du palmier dattier et le profil plasmidique des mitochondries chez cette espèce.

Remerciements

Ce travail a été partiellement financé par le CNRS et l'IBP (France) dans le cadre de la coopération CMCU et des accords DGRST/CNRS et par le Ministère de l'Enseignement Supérieur dans le cadre de l'appui à la recherche.

Bibliographie

1. AITCHITT M., AINSWORTH C.C., THANGAVELU M. A rapid and efficient method for extraction of total DNA from mature leaves of date-palm (*Phoenix dactylifera* L.) Plant Mol Biol Reprtr 11 (4): 317-319 (1993).
2. ARAGANOZA M.T., AKINS R.A. Recombinant mitochondrial plasmids in *Neurospora* composed of Varkud and a new multimeric mitochondrial plasmid. Curr Genet 29: 34-43 (1995).

3. BAAZIZ M. Contribution à l'étude des peroxydases du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). Relations avec la résistance de la plante à la maladie du bayoud, fusariose vasculaire à *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*. Thèse de Doctorat d'Etat, Université Cadi Ayed, Faculté des Sciences Semlalia, Marrakech, Maroc (1990).
4. BENNACEUR M., LANAUD C., CHEVALLIER M.H., BOUNAGA N. Genetic diversity of the date-palm (*Phoenix dactylifera* L.) from Algeria revealed by enzyme markers. *Plant breeding* 107: 56-69 (1991).
5. BENSLIMANE A.A., RODE A., QUETIER F., HARTMANN C. : Characterization of two minicircular plasmid-like DNAs isolated from date-palm mitochondria. *Curr Genet* 26: 535-541 (1994).
6. BENSLIMANE A.A. Plasmides mitochondriaux du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). Mise en évidence et caractérisation moléculaire. Thèse de Doctorat d'Etat, Université Cadi Ayed, Faculté des Sciences Semlalia, Marrakech, Maroc (1995).
7. BENSLIMANE A.A., HARTMANN C., OUENZAR B., RODE A. Intramolecular recombination of a mitochondrial minicircular plasmid-like DNA of a date-palm mediated by a set of short direct-repeat sequences. *Curr Genet* 29: 591-593 (1996).
8. DEBETS F., YANG X. and GRIFFITHS A.J.F. : The dynamics of mitochondrial plasmids in Hawaiian population of *Neurospora intermedia*. *Curr Genet* 29: 44-49 (1995).
9. DJERBI M. Seminar on bayoud disease in Africa. *Nenadates News* 1: 2 (1982).
10. DJERBI M., SEDRA M.Y., EL IDRISSE-AMMARI M.A. Caractéristiques culturelles et identification du *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, agent causal du bayoud. *Ann Inst Nat Rech Agron Tunis* 58: 178 (1985).
11. FLAMAND M.C., DUC G., GOBLET J.P., HONG L., LOUIS O., BRIQUET M., BOUTRY M. Variant mitochondrial plasmids of broad bean arose by recombination and are controlled by the nuclear genome. *Nuc Acids Res* 21-23: 5468-5473 (1993).
12. MATHERON B., BENBADIS A. Contribution à l'étude du bayoud, fusariose du palmier dattier. I. Etude du cultivar sensible Deglet-Nour. *Can. J. Bot* 68: 2054-2058 (1990).
13. RHOUMA A. Le palmier dattier en Tunisie. I. Le patrimoine génétique. Arabesques Editions et Créations, Tunis, Tunisie (1992).
14. SAAIDI M. Contribution à la lutte contre le bayoud, fusariose vasculaire du palmier dattier. Thèse de Doctorat d'Etat, Université de Dijon, France (1979).
15. SAAIDI M. Comportement au champ de 32 cultivars de palmier dattier vis-à-vis du bayoud: 25 années d'observations. *Agronomie* 12: 359-370 (1992).
16. SAIKI R.K., SCHARF S., MULLIS K.B., HORN G.T., ELRICH H.A., ARNHEIM N. Enzymatic amplification of β -globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* 239: 1350-1354 (1985).
17. SAMBROOK J., FRITISCH E.F. and MANIATIS T. *Molecular cloning : a laboratory manual*. 2d ed. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York (1989).
18. SEDRA M.E. Evaluation and selection of cultivars and clones of date-palm for resistance to the bayoud-disease. *Arab J. Plant Prot* 10 (2) : 155-160 (1992).
19. WEINING S., LANGRIDGE P. Identification and mapping of polymorphism in cereals based on the polymerase chain reaction. *Theor Appl Genet* 82: 209-216 (1991).

SECTION C

**Textes et résumés des Affiches
de C6 à C39**

C6 : Développement et utilisation de lignées isogéniques pour l'évaluation du rôle de la glaucescence dans l'efficacité d'utilisation de l'eau chez le blé

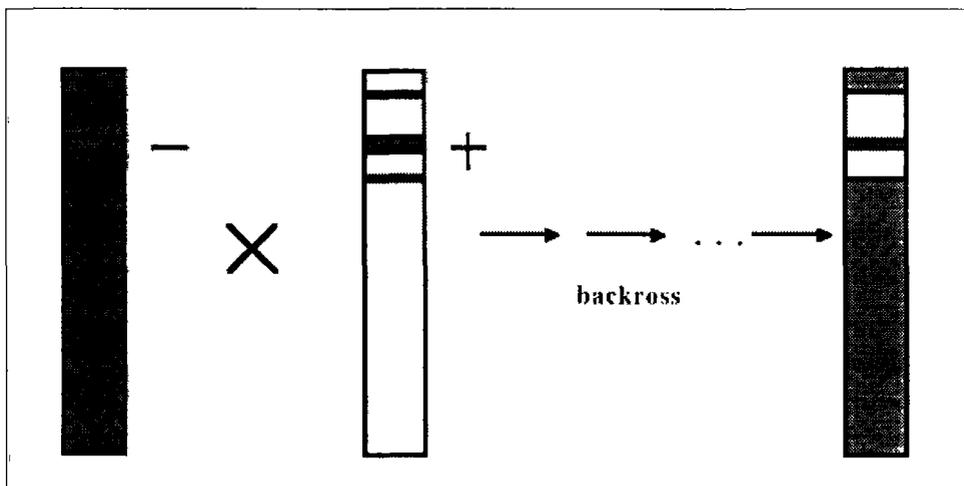
QARIANI L.¹, JLIBENE M.², EL JAAFARI S.¹

¹ Laboratoire de Biotechnologies et Amélioration des Plantes, Faculté des sciences, Université Moulay Ismaïl, BP 4010 Béni M'hamed, 50000- Meknès, MAROC.

² Institut National de Recherche Agronomique, Programme Bour Favorable, CRAA-Saïs et Moyen Atlas, BP 578, 50000 Meknès, MAROC.

INTRODUCTION

Les lignées isogéniques pour un gène ou locus donné sont des lignées qui possèdent le même génotype, à l'exception d'un locus qui a fixé des allèles différents. Dans la pratique, l'obtention de celles-ci se fait en réalisant des backcross successifs entre une lignée « donneuse » d'un gène favorable, et une lignée receveuse (ou récurrente).



R : Lignée «releveuse» (ou récurrente) ; *D* : Lignée «donneuse» d'un gène favorable ; *R'* : Lignée ayant reçu le gène

La création de ces lignées n'est en fait, en l'état actuel des recherches, réalisable que pour des caractères à déterminisme génétique simple.

À l'institut National de Recherche Agronomique (INRA) de Meknès, des lignées isogéniques du blé sont développées dans le but de créer des variétés à résistance multiple aux maladies. Certaines de ces lignées présentent des différences concernant des caractères morphologiques potentiellement impliqués dans l'efficacité d'utilisation de l'eau comme les barbes, la glaucescence et la pilosité. En effet, ces caractères induisent une augmentation de la réflectance et donc une réduction de la température foliaire limitant ainsi les pertes en eau par transpiration. Un tel matériel peut constituer un moyen pour valider le rôle de ces caractères dans l'efficacité d'utilisation de l'eau.

La présente étude vise l'examen et l'analyse de l'effet des différences relatives à la quantité de cires épicuticulaires, entre lignées isogéniques de blé, sur l'efficacité d'utilisation de l'eau. L'objectif de ce travail étant d'évaluer le rôle de ces adaptations micromorphologiques du tissu foliaire dans l'EUE et la tolérance à la sécheresse chez le blé.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Des lignées isogéniques de blé développées à L'INRA - Meknès et caractérisées par leur résistance multiple aux maladies (cécidomyie, rouilles jaunes, brunes et noires) ont été utilisées et évaluées sur base de caractères morphophysologiques liés aux pertes d'eau et leurs relation avec le satut hydrique et l'EUE. Ces lignées sont issues de croisement entre les principales variétés cultivées au Maroc (Achtar, Marchouch, Kenz, Nesma) et des sources de résistance aux maladies citées ; suivie de croisements retours au parent récurrent que constitue la variété cultivée. La proportion minimale du génome en commun étant de 97 %. Il convient de noter que ce matériel végétatif est d'une obtention récente et qui n'a fait l'objet d'aucune étude physiologique.

Les paramètres mesurés relatifs aux pertes d'eau par ces lignées, concernent : la transpiration, la résistance stomatique, la glauescence et la perte relative en eau en condition de lumière et d'obscurité. La résistance stomatique et la transpiration foliaire sont mesurées à l'aide d'un poromètre à diffusion qui fournit la résistance (R) à la diffusion de vapeur d'eau. La feuille étandard qui sert de mesure est placée de telle sorte que le thermocouple de l'appareil soit en contact avec la partie médiane de la face abaxiale moins soumise aux forts rayonnements, donc plus homogène que la face adaxiale (surface foliaire fixée est de 0.65 cm²). Ces mesures sont réalisées au cours de la mi-journée sur un ciel bien dégagé. La perte relative en eau, dans les deux cas, repose sur la dessiccation de la feuille excisée pendant 4 heures et ceci à des intervalles de temps fixés (2h, 4h et 6h). La glauescence est déterminée par dosage de la quantité des cires par unité de surface foliaire. Notons que nous avons pu déjà opérer un classement de notre matériel végétatif quand à leur aptitude à accumuler des cires.

RÉSULTATS & DISCUSSION

Relation « Glauescence-EUE »

Chez le blé, la réduction des pertes d'eau, élément important qui pourrait attribuer à l'amélioration de l'EUE, s'obtient en partie par la mise en place de barrières morphologiques des tissus foliaires dont les cires, caractère génétique ayant la faculté de s'extérioriser et de s'exprimer mieux en conditions de déficit hydrique. La quantité de ces cires épicuticulaires est conditionnée, chez le sorgho, par deux loci (Bm1 et Bm2) tandis que leur nature est contrôlée par des allèles récessifs correspondants à trois loci au moins (h1, h2, et h3) (Peterson *et al.*, 1982). Les deux caractères ségrègent de manière indépendante et aux différentes combinaisons correspondent divers types et quantités de cires. McIntosh (1983) a montré que la glauescence est contrôlée chez le blé, par une série de gènes (wl, W1, W1', W2a, W2b, W2') correspondant aux génomes B et D. Par ailleurs, Johnson *et al.* (1983) ont indiqué que l'expression de la glauescence dépend de l'arrangement des cires déposés plutôt que de la quantité de cires.

D'après nos résultats, on a enregistré trois types de classes de lignées isogéniques selon leur aptitude à accumuler des cires (figures 1, 2 et 3) :

Classe I : comprend les lignées isogéniques 1-2 caractérisées par leur capacité à accumuler des quantités de cires élevées. Ces lignées se sont distinguées comparativement aux autres lignées par, un taux de transpiration faible, une résistance stomatique et une température foliaire relativement élevées et enfin par des pertes relatives en eau basses.

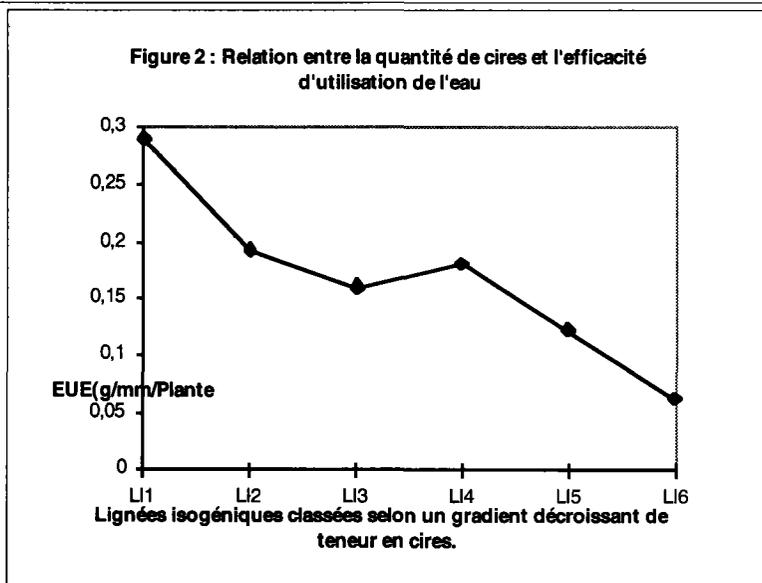
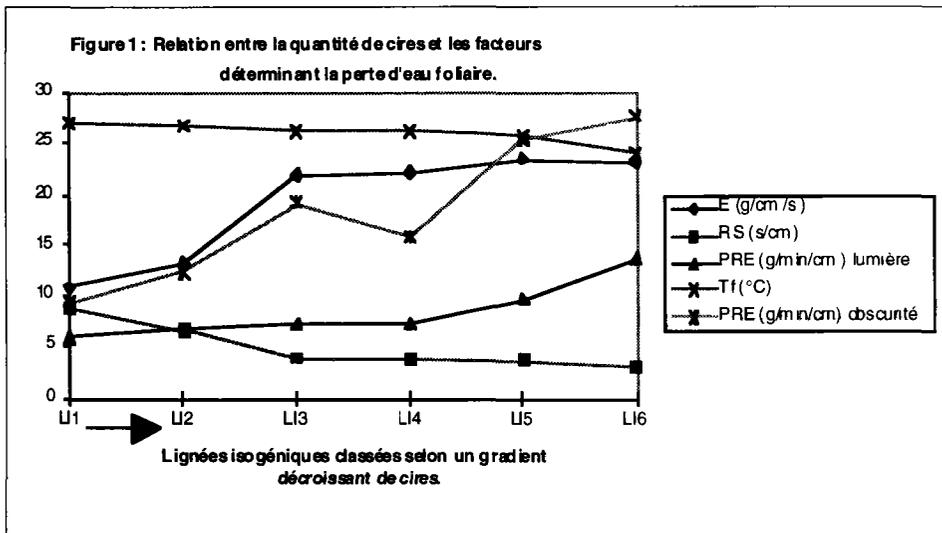
Classe II : comprend les lignées isogéniques 3-4-5 avec les caractéristiques suivantes : une glauescence moyenne, une transpiration et une résistance stomatique intermédiaires et des pertes relatives en eau moyennes.

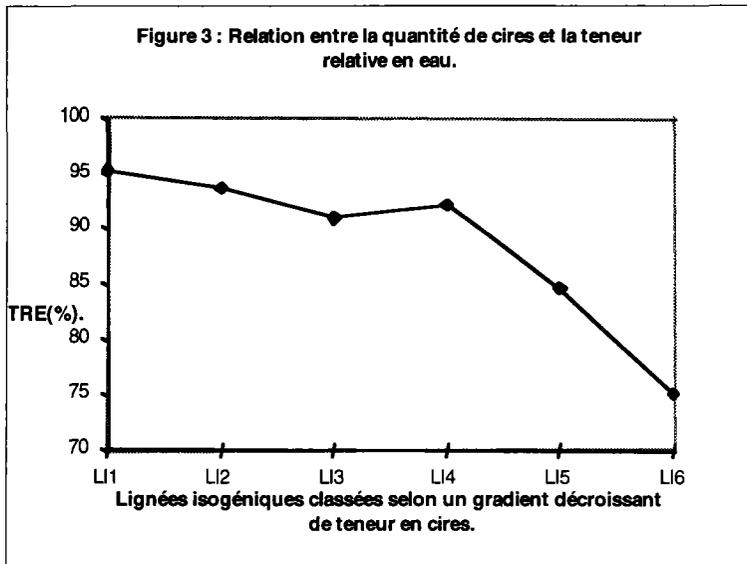
Classe III : avec la lignée isogénique 6 présentant une quantité de cires épicuticulaires faible, une transpiration plus prononcée, une résistance stomatique et une température foliaire relativement faibles et des pertes en eau élevées.

Ainsi, il semble que le flux d'eau (stomatique et cuticulaire) au niveau de la feuille est déterminé par la quantité de cires cuticulaires : un taux de cires élevé est lié à un taux de transpiration bas. Cependant, la réduction de la transpiration ne se traduit pas forcément par une augmentation de la température foliaire ; ceci pourrait être expliqué par l'augmentation de la réflectance due aux cires et induisant une réduction de la radiation interceptée et limitant ainsi les pertes en eau.

Soulignons que la majeure partie de l'eau se perd par transpiration à travers les stomates, à l'exception d'une portion qui s'échappe par la cuticule de la feuille. Cette perte relative en eau qui reflète le taux de transpiration cuticulaire a lieu en condition d'obscurité du fait qu'à part les plantes CAM, toutes les autres plantes ouvrent leurs stomates en réponse à la lumière et les ferment à l'obscurité.

Par ailleurs, il convient de noter qu'en général, les lignées isogéniques qui ont présenté une accumulation plus importante en cires sont celles qui se sont distinguées par une supériorité très marquée du point de vue efficacité d'utilisation de l'eau (EUE exprimée par le rapport de la matière sèche aérienne par quantité d'eau consommée). Ceci est en accord avec les travaux de Clarke et Richards (1988) et ceux de Clarke *et al* (1989) qui ont montré que la majorité des accessions glaucescentes (en moyenne 94 %) ont des rendements en biomasse plus élevés que celles à glaucescence faible. Dans ce sens, Dakheel et Makdis (1991) ont montré que les lignées isogéniques glaucescentes présentent un rendement en biomasse 11 % plus élevé que chez les lignées non glaucescentes.





Relation « TRE - glaucescence »

Généralement, Les lignées isogéniques qui ont enregistré les teneurs relatives en eau les plus élevées sont les plus performantes en terme de glaucescence (**Figure 3**). Ceci pourrait être expliqué partiellement par une réduction des pertes en eau par transpiration. Par ailleurs, les lignées isogéniques à teneur relative en eau élevée se sont montrées les plus efficaces vis-à-vis de la production de matière sèche. La caractérisation du statut hydrique d'une plante est donc d'une importance certaine dans la sélection de plantes plus efficaces en eau.

Dans une précédente étude (Qariani *et al.*, 1997), nous avons démontré l'existence d'une forte corrélation positive entre la teneur relative en eau et l'efficacité d'utilisation de l'eau expliquée partiellement par une réduction des pertes d'eau par transpiration. Une EUE élevée s'est révélé un mécanisme d'esquive plutôt qu'un mécanisme de tolérance semblait être plus utile en conditions de stress sévère qu'en conditions de stress modéré. Nous avons alors conclu que, suivant le niveau de stress auquel le blé est exposé, la recherche d'un niveau donné d'EUE doit tenir compte du compromis entre la limitation de la transpiration et le maintien des échanges gazeux et que pour une même EUE, les niveaux du rendement absolu (et non par rapport à l'eau consommée) peuvent être différents.

CONCLUSION

Compte tenu de ces résultats, on peut conclure que les lignées isogéniques les plus performantes en terme d'efficacité d'utilisation de l'eau exprimée ici par le rapport de la matière sèche et de la quantité d'eau consommée, sont pratiquement des lignées glaucescentes. Cette relation taux de cires - EUE pourrait être expliquée par : une perte d'eau faible par réduction de la température foliaire réduisant ainsi à la fois la transpiration stomatique et cuticulaire, et contribuant ainsi au maintien d'un statut hydrique foliaire favorable caractérisé dans cette étude par la mesure de la teneur relative en eau.

Par ailleurs, des paramètres morphophysologiques comme l'EUE, la TRE ou le taux de cires, ne peuvent, en toute rigueur être utilisés en sélection qu'après que leur rôle effectif dans la tolérance au déficit hydrique ait été vérifié. Dans le cas d'un caractère morphologique à déterminisme génétique simple comme la glaucescence (Monneveux et This, 1997), les lignées isogéniques sont un matériel de choix pour valider le rôle de ces caractères dans la tolérance à la sécheresse.

Bibliographie

1. CLARKE J.M., RICHARDS R.A. (1988). Can. J. Plant Sci., 68, 975.
2. CLARKE J.M., RAMAGOSA I., JANA S., SRIVASTAVA J.P., MC GRAIG T.N. (1989) Can J. Plant Sci., 69, 1075.
3. DAKHEEL A., MAKDIS F. (1991). In «CIP report», ICARDA, Aleppo, 120
4. JOHNSON D.A., RICHARDS R.A., TURNER N.C. (1983). Crop Sci., 23, 318.
5. MC INTOSH R.A. (1983). Proc. Vith. Int. Wheat Genet. Symp., 1197.
6. MONNEVEUX Ph., This D. (1997). Sécheresse, 8, 29.
7. PETERSON G.C., KRITTIKA S., WEIBEL D.E. (1982). Crop Sci., 22, 63.
8. QARIANI L., DJEKOUN A., EL JAAFARI S. (1997). In « Adaptation des blés aux contraintes environnementales ». S. El Jaafari & Ph. Monneveux eds., INRA- GRAM-eds., Paris (en préparation).

C7 : Étude de la ségrégation transgressive pour la résistance de l'orge à *Pyrenophora teres*

CHERIF M., HARRABI M.
INAT, Tunisie

INTRODUCTION

La rayure réticulée causée par *Pyrenophora teres* (Died.) Drechs. (stade conidien : *Drechslera teres* (Sacc.) Shoem.) est l'une des maladies majeures de l'orge (*Hordeum vulgare* L.) en Tunisie (Cherif et al., 1994). Sa gravité est due en partie à la culture de variétés sensibles.

La résistance variétale, est l'un des moyens les plus économiques, les plus écologiques et les plus efficaces de contrôle de cette maladie. Cette approche a nécessité le criblage des sources de résistance dans un certain nombre de pays producteurs d'orge. Plusieurs sources de résistance ont été identifiées à partir de différentes régions du monde. Les études génétiques effectuées sur ce matériel résistant ont révélé dans la plupart des cas une hérédité simple (Bockelman et al., 1977, Ho et al., 1996 ; Wilcoxson et al., 1992).

Parallèlement à cette résistance simple, estimée d'une manière qualitative, un autre type de résistance qualifié de résistance quantitative, incomplète ou partielle a été décrit, et son contrôle génétique a été étudié dans le but d'assister des programmes d'amélioration de la résistance (Arabi et al., 1990 et Steffenson et al., 1991). L'intérêt de ce type de résistance réside dans la réduction du taux de développement de la maladie tout en étant non spécifique au pathotype. La manifestation de la résistance serait alors plus stable et plus durable.

Pour ce type de résistance, Khan et Boyd (1969) ont attribué l'expression génétique à l'effet de(s) gène(s) majeur(s) qui est (sont) influencé(s) par la(es) réponse(s) de(s) gène(s) mineur(s) et à l'effet de l'environnement. Cependant, en absence de gène(s) majeur(s), l'expression quantitative de la résistance peut être due uniquement à l'effet des gènes mineurs. C'est ainsi que Bjarko (1979) et Bordelon (1981) ont rapporté la présence de gènes mineurs de résistance chez les variétés d'orge sensibles. Ils ont décelé une ségrégation transgressive pour la résistance au cours des générations F2, F3 et F4 issues de croisements entre des parents d'orge sensibles à *P. teres*.

De même, un programme de croisements et de sélections a été établi en 1985, par le laboratoire de génétique de la résistance aux maladies de l'Institut National Agronomique de Tunisie en vue de profiter de la ségrégation transgressive pour la résistance. Ainsi, huit variétés d'orge sensibles à *P. teres* ont été croisées pour produire sept croisements.

La sélection au champ (à des infections naturelles) des descendants les plus résistants à *P. teres* a commencé en F2, et en conditions contrôlées de laboratoire à partir de la F5. Ainsi, seules les plantules F5 les plus résistantes ont été repiquées au champ, où elles ont été soumises à une seconde sélection en fin de leur cycle. Au niveau de toutes les générations, les graines appartenant aux plantes résistantes sont récoltées en mélange pour former la population suivante. Après les deux ans de double sélection (F5 et F6), des familles F7 ont été formées. Toutes ces familles ont été avancées pour donner successivement les générations F8, F9 et F10. Le but du présent travail étant d'étudier l'évolution de la résistance de l'orge à *P. teres* au cours des générations en ségrégation et d'identifier l'origine et de sélectionner les lignées les plus résistantes au niveau des générations avancées.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Pour étudier l'évolution de la résistance, les parents ainsi que leurs descendants : F1, F2, F3, F4, F5 et F6 ont été testés au stade juvénile en conditions contrôlées à des isolats différents de *P. teres*. Les trois premières générations ont été évaluées par un mélange de 5 isolats Tunisiens de *P. teres*. Les générations F4, F5 et F6 ont été évaluées respectivement par 3, 7, et 2 isolats d'origine maghrébine. Le nombre de plantes testées était compris entre 200 et 300 pour toutes les générations exceptée la F1, dont le nombre de plantes testées était de l'ordre de 15 à 25.

Toutes les plantes ont été semées dans des plateaux en plastique, cultivées pendant une semaine dans une chambre de culture, inoculées par des suspensions de spores ajustées à 10^4 conidies/ml, incubées pendant 36 heures dans une chambre humide puis retournées dans la chambre de culture. Elles ont été évaluées à l'âge de 15 à 20 jours selon le type d'infection (TI) qui varie de : 0 à 4.

L'évaluation à l'infection naturelle par *P. teres*, des descendants F7, F8 et F10 a été faite au champ, au stade épiaison respectivement durant les années : 1993, 1994 et 1996. Chaque lignée a été semée sur deux lignes de 1 mètre. La variété « Rihane » utilisée comme témoin sensible a été semée après toutes les 5 lignées.

La génération F7 a été évaluée à la station de Mornag. La génération F8 a été évaluée dans les 2 stations : Mornag et INAT, alors que la génération F10 a été évaluée dans les trois sites : Mornag, Mograne et Béja. Le pourcentage d'infection globale a été utilisé pour estimer l'importance de la maladie.

RÉSULTATS

Pour simplifier le travail, seules les données relatives à quatre croisements sont présentées dans l'étude de l'évolution de la résistance en fonction des cycles de sélection.

Pour les quatre croisements, un profil de résistance est observé au cours des générations F1, F2, F3, F4, F5 et F6 avec une augmentation progressive et régulière du pourcentage de plantes résistantes d'une génération à une autre. L'augmentation du pourcentage de plantes résistantes entre la première et la sixième génération est respectivement de 70 ; 77 ; 80,5 et 49 % pour les croisements 1, 2, 3 et 4.

Une analyse de régression linéaire des réactions en fonction des générations a été effectuée pour les quatre croisements et pour les deux critères d'évaluations de la maladie (**Tableau 1**). Ce modèle a été trouvé significatif au seuil 5 % pour tous les croisements et pour les deux critères, sauf pour le croisement 4 lorsqu'il est évalué par le type d'infection moyen.

Les équations de régression établies à partir de ces analyses montrent que les coefficients de régression sont négatifs pour les types d'infections et positifs pour les pourcentages de plantes résistantes. En d'autres termes, le type d'infection diminue à chaque génération, alors que le pourcentage de plantes résistantes augmente. Théoriquement, si on continue la sélection, on atteint la résistance totale avec un type d'infection nul à la F10 pour les croisements 1 et 2, à la F11 pour le croisement 3, et à la F19 pour le croisement 4. En outre, toutes les plantes issues des quatre croisements seront résistantes entre la 8^e et la 10^e génération.

Tableau 1 : Analyse de régression linéaire du type d'infection et du pourcentage de plantes résistantes sur les générations issues des 4 croisements.

Croisement	Critère d'évaluation	Coeff. de corrélation	Equation de régression
1	Type d'infection	-0,89 *	$Y = - 0,37 X + 3,67$
	% de pl. résistantes	0,93 *	$Y = 11,91 X + 2,80$
2	Type d'infection	- 0,90 *	$Y = - 0,43 X + 4,10$
	% de pl. résistantes	0,95 *	$Y = 15,33 X - 15,57$
3	Type d'infection	- 0,88 *	$Y = - 0,35 X + 3,87$
	% de pl. résistantes	0,89 *	$Y = 12,50 X - 9,50$
4	Type d'infection	- 0,65 NS	$Y = - 0,19 X + 3,60$
	% de pl. résistantes	0,96 *	$Y = 9,91 X - 5,20$

* : Coefficient de corrélation entre x et y est significatif au seuil 5%. NS : Coefficient de corrélation entre x et y est non significatif

Les résultats relatifs aux comportements des générations avancées (F7, F8 et F10) dans les différents sites se ressemblent globalement. Seules les réactions des générations F8 issues de cinq croisements évalués dans les sites : Mornag et INAT sont représentées dans cette étude.

Au cours de cette année, les conditions climatiques étaient assez bonnes au développement de la maladie. De tous les croisements, les croisements 2 et 3 ont exprimé les sévérités moyennes les plus faibles et le plus grand nombre de plantes résistantes (**Figure 1**). On note toutefois, à la station de l'INAT, 5 % de lignées appartenant au croisement 1 qui sont presque indemnes de maladie. Le croisement 4 montre toujours une sévérité moyenne la plus élevée (supérieure à 20 %), le plus grand nombre de plantes sensibles et le nombre le plus réduit de plantes résistantes. Cependant, ces évaluations restent nettement inférieures à celles des témoins ayant montré une sévérité de 42 et 51 % respectivement à Mornag et à l'INAT (données non représentées dans les courbes).

Ainsi, après évaluation des lignées F10 dans les sites : Mornag, Mognane et Béja, les plus résistantes ont été retenues. Des essais de rendement sont en cours pour l'évaluation de ces lignées homozygotes retenues.

DISCUSSION

Une ségrégation transgressive pour la résistance est observée dans la descendance issue des quatre croisements de parents sensibles. Cette ségrégation serait due à la présence de gènes mineurs de résistance à *P. teres* chez les parents sensibles utilisés (Bjarko, 1979 et Bordelon, 1981). En effet, au niveau des parents, les effets individuels des gènes mineurs sont trop faibles pour être détectés, ce qui explique la sensibilité de ces parents. Au moment des hybridations, il y a eu addition des gènes mineurs qui se sont exprimés au cours des générations en ségrégation sous forme d'une résistance partielle. Des études précédentes ont attribué les bases génétiques de cette résistance à des effets géniques additifs (Arabi et al., 1990), à des effets géniques additifs et additifs x épistatiques (Cherif et Harrabi, 1990), et à l'effet d'un seul gène partiellement dominant combiné à des effets géniques additifs (Douglas et Gordon, 1985).

Il est clair, d'après cette étude, que la ségrégation transgressive est plus évidente dans les générations les plus avancées (F6, F5 et F4). Cette augmentation de la résistance pourrait être expliquée par, d'une part le rôle de la sélection dans un programme d'amélioration des plantes, et d'autre part par les combinaisons favorables des gènes mineurs récessifs dont les allèles homozygotes apparaissent successivement au cours des générations en ségrégation. Il semble bien évident que l'effet de la sélection est celui qui a contribué le plus à cette manifestation de résistance. En effet, au cours de cette étude, une pression de sélection a été exercée sur les plantes adultes F2-F6 et sur les plantules F5 et F6.

La seconde étude a montré que les générations avancées (F7-F10) manifestent une résistance partielle au champ à *P. teres*. Les combinaisons de gènes sont cependant meilleures à partir de certains croisements qu'à partir d'autres. En effet, les sévérités moyennes et les distributions des fréquences ont indiqué un maximum de résistance pour le croisement 3. Les données collectées au stade plantule sont en accord avec ce résultat. Il est alors supposé que les gènes apportés par les deux parents formant ce croisement, sont d'origines assez éloignées et présentent une bonne aptitude à la combinaison.

Bibliographie

1. M ARABI I., SARRAFI LA., BARRAULT G., ALBERTINI L. (1990) Inheritance of partial resistance to net blotch in barley. *Plant Breeding* 105, 150-155.
2. BJARKO M.E. (1979). Sources and genetic action of resistance in barley to different virulence types of *Pyrenophora teres*, the causal organism of net blotch. Bozeman, Montana State University, 97 pp M Sc Thesis.
3. BOCKELMAN H.E., SHARP E.L., ESLICK R.F. (1977). Trisomic analysis of genes for resistance to scald and net blotch in several barley cultivars. *Can. J. Bot.* 55,2142-2148.
4. BORDELON B.P. (1981). Transgressive segregation for résistance in barley to net blotch Bozeman, Montana State University, 86 pp. M. Sc Thesis.
5. CHERIF M., HARRABI M. (1990). Generation mean analysis of inheritance of resistance to *Pyrenophora teres* in barley. *Plant Breeding* 105,69-74.
6. CHERIF M., HARRABI M., MORJANE H. (1994). Distribution and importance of wheat and barley diseases in Tunisia, 1989 to 1991. *Rachis* 13, 25-34.
7. DOUGLAS G.B., GORDON I.L. (1985). Quantitative genetics of net blotch resistance in barley. *New Zealand J. of Agr. Res.* 28,157-164.
8. HO K.M., TEKAUZ A., CHOO T.M., MARTIN R.A. (1996). Genetic studies on net blotch resistance in barley cross. *Can. J. Plant Sci.* 76,715-719.
9. KHAN T.N., BOYD W.J.R. (1969). Environmentally induced variability in host reaction of barley to net blotch. *Austral. J. Biol. Sci.* 22,1237-1244.
10. STEFFENSON BRIAN J., WEBSTER R.K., JACKSON L.F. (1991). Reduction in yield loss using incomplete resistance to *Pyrenophora teres f teres* in barley. *Plant Dis.* 75,96-100.
11. WILCOXSON R.D., RASMUSSEN D.C., TREEFUL L.M., SUGANDA T. (1992). Inheritance of résistance to *Pyrenophora teres* in Minnesota barley. *Plant Dis.* 76,367-369.

C8 : Évaluation de la résistance à la contrainte hydrique et calorique d'une collection de blé dur: recherche de paramètres précoces de sélection

BEN SALEM M., BOUSSEN H., SLAMA A.

Département de Physiologie et de Biotechnologie, Laboratoire de Physiologie Végétale, INRAT. Rue Hédi Karray, 2049, Ariana, Tunis, Tunisie.

INTRODUCTION

Les céréales sont soumises, essentiellement dans les régions de la rive sud de la Méditerranée à des sécheresses très fréquentes. Ainsi, la culture du blé dur est associée en général aux zones dont les pluviométries annuelles sont de 300-400 mm (Srivastava, 1984). En Tunisie la stabilité des productions céréalières constitue actuellement une priorité dans la stratégie tunisienne d'amélioration des céréales (Ben Salem et al., 1995).

La lutte contre les sécheresses (Rognon, 1996) doit être envisagée moyennant une approche multidisciplinaire qui intègre, dans le cas des céréales, essentiellement l'irrigation, les techniques culturales et la sélection d'un matériel adapté. Les travaux réalisés dans le cadre de l'ARC « Biotechnologie et résistance à l'aridité des céréales » s'inscrivent dans le dernier cadre. En effet, l'association des techniques agrophysiologiques et biotechnologiques peut constituer une des voies permettant l'amélioration des productions dans les zones soumises à des contraintes abiotiques et biotiques (Demarly et Sibi, 1989).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Matériel végétal

Nous avons utilisé au cours des différentes manipulations 14 variétés de blé dur qui ont été choisies de telle façon à présenter le plus possible de diversité sur les plans agrophysiologique, origine géographique et époque d'adoption en tant que variété de grande culture. Ainsi :

- Jennah khottifa 1 (JK1), Jennah Khottifa 2 (JK2), Chili, Inrat et Bidi 117, constituent des accessions anciennes cultivées essentiellement en Afrique du Nord (Tunisie et ou Algérie).
- Maghrébi, Ben Bachir, Karim, Razzak, Khiar et Om Rabiaa 3, sont, par contre, des obtentions tunisiennes relativement nouvelles. Les deux variétés karim et Khiar couvrent actuellement la plus grande partie des superficies emblavées en blé dur dans le nord de la Tunisie (sub-humide et semi-aride supérieur et inférieur).
- Duriac et Villemur, sont des variétés cultivées actuellement en grande culture en France et ont été obtenues suite à un programme de coopération avec le laboratoire d'amélioration des plantes de l'INRA/ENSAM de Montpellier.
- Cham 1 est une obtention de l'ICARDA (témoin du réseau de l'ARC).

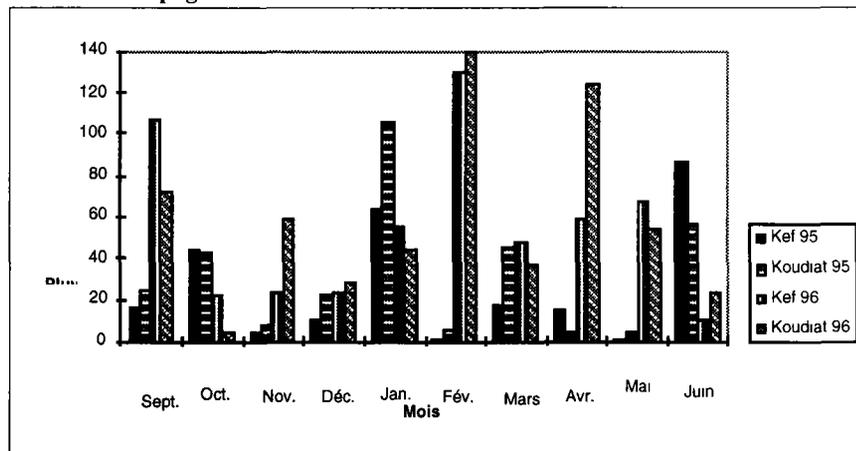
Les variétés Cham 1 et Jennah Khottifa ont été utilisées en raison de leur meilleure aptitude à la production d'haploïdes. Les résultats peuvent ainsi servir les autres partenaires impliqués dans les C.I.V.

Conduite des cultures

• Essais de plein champ

Les diverses variétés ont été cultivées au cours d'une succession de campagnes céréalières dans le cadre du programme d'adaptation des céréales aux zones arides conduit par le laboratoire de physiologie végétale de l'INRAT. Ces essais servent essentiellement à des déterminations du rendement en grains et de ces composantes. Les résultats sont relatifs aux campagnes 94/95 et 95/96. les pluviométries mensuelles relatives à ces deux campagnes sont données à la **figure 1**.

Figure 1. Variation de la pluviométrie mensuelle dans les sites du Kef et du Koudiat au cours des campagnes céréalières 94/95 et 95/96.



Au cours de la campagne céréalière 94/95, les essais ont reçu dans le site de Koudiat une irrigation de 50 mm avant le semis.

Un autre essai comportant 13 variétés de BD semées en lignes de 2 m de long à raison, suivant les disponibilités en semences, d'une à deux lignes / variété, espacées de 0,25 m. Le semis a été réalisé, à la station de l'INRAT à l'Ariana, le 23/12/96 pour JK, le 1/3/97 pour Villemur et le 2/12/96 pour le reste des variétés. Les plants ont été utilisés pour des mesures, au stade montaison (Zadoks,49) de l'évolution de la TR% en fonction du dessèchement foliaire et de l'intégrité cellulaire.

• *Essais en milieu contrôlé*

Ces essais ont été utilisés pour des mesures aux stades jeunes (coléoptile et 3 feuilles). Ils ont été conduits en chambre de culture sous une intensité lumineuse de 150 μ moles $m^{-2} s^{-1}$ et une photopériode de 12 heures. La température ambiante est de 25°C environ. L'humidité relative a été maintenue à 50 % grâce à un humidificateur à déclenchement automatique.

Les semis ont été échelonnés, suivant les besoins de l'expérimentation, à partir de décembre 1996. Ils ont été réalisés dans des pots en plastique à raison de 5 graines/pot. Chaque pot contenait 2,5 Kg de sol sec. Celui-ci a été maintenu, suivant les besoins, soit à 70 % de la R.E.U., soit à 20 % de la R.E.U.

Au stade 3 feuilles, nous avons déterminé le ψ foliaire de base et à 10h., la fréquence et l'indice stomatique, l'évolution du dessèchement foliaire en fonction du temps et l'intégrité cellulaire. Au stade coléoptile (Zadok, 11) nous avons déterminé uniquement les deux derniers paramètres.

Méthodes

L'intégrité cellulaire a été réalisée selon la technique proposée par Blum (1983) et modifiée dans le cas des prélèvements au stade coléoptile (carrés de limbes au lieu de disques : résultats du premier rapport de l'ARC). Les résultats sont exprimés en pourcentages de dommage :

CL

$$P.I(a) = (1 - \frac{\text{CT}}{\text{CT}}) \times 100 \quad (1)$$

$$P.I(r) = \frac{PI(a) TR}{PI(a) Te} \times 100 \quad (2)$$

$$P.D. = 100 - P.I(r) \quad (3)$$

P.I(a) = pourcentage d'intégrité absolue.

P.I(r) = pourcentage d'intégrité relative.

TR = traitement.

Te = témoin.

Le potentiel hydrique foliaire a été mesuré par une chambre de pression pms. La teneur relative en eau a été évaluée selon la formule : $TR\% = PF - PS / PT - PS$.

L'évolution de la teneur relative en eau en fonction du dessèchement foliaire a été réalisée selon la technique proposée par Vieira Da Silva (1967).

RÉSULTATS

Essai au champ

• *Variation des composantes du rendement en grains*

Les résultats ne montrent aucune différence significative de l'effet variété au cours de la campagne céréalière 95/96 sur le nombre de plants/m² (PL/m²), le nombre de talles/ m² (TI/m²) et le nombre d'épis/m² (Ep/m²) : **tableau 1.**

Par contre, un effet significatif de la variété a été observé pour la durée en jours depuis la levée jusqu'à l'épiaison (L-Ep). Les épiaisons les plus tardives ont été enregistrées pour les variétés tunisiennes relativement anciennes Chili et Inrat 69 et les deux variétés françaises Duriac et Villemur.

Tableau.1. Variation des composantes du rendement en grains dans une population de BD dans la région de Bou Salem (semi-aride supérieur de la Tunisie (campagne 95/96).

Ep	Variété	Pl/m ²	Tl/m ²	Ep/m ²	L-
132	Chili	249	251	337	
125	Inrat 69	211	323	318	
96	Maghrébi	226	342	323	
109	Ben Bachir	213	373	338	
110	Razzak	203	355	313	
105	Karim	220	289	273	
105	Khlar	236	295	271	
112	Om Rabiaa 3	218	298	283	
125	Duriac*	237	343	293	
125	Villemur*	196	339	325	
24	ddl (V)**	24	24	24	
6,84	ppds (1%)	NS	NS	NS	
1,8	CV%	9,8	15,5	15,1	

* Variétés françaises

** Analyse statistique de tout l'essai

• Variation du rendement en grains

Les résultats (Figure 2) n'ont pas permis de déceler des variations significatives entre les variétés au cours de la campagne 94/95. Le coefficient de variation était d'ailleurs anormalement élevé. Au cours de 95/96 la plus productive parmi les variétés tunisiennes s'avère Om Rabiaa 3. La plus productive de toutes étant, en moyenne, Villemur. Celle-ci conserve une nette supériorité par rapport à Duriac malgré les ressemblances des caractéristiques des composantes du rendement des deux variétés. La supériorité de villemur est conservée même en année relativement plus sèche (1995).

• Les échanges gazeux

Ils ont été déterminés pour Duriac, Razzak, Karim et Khiar respectivement aux stades début épiaison (Zadok ; 49), et stade laiteux pour les trois autres (Zadok ; 71). Les mesures en quatre répétitions ont été réalisées entre 11h00 et 13h00. Les grandes variations d'ensoleillement ont entraîné de grandes variations importantes des résultats qui restent malgré tout exploitable (Tableau 3).

Les résultats montrent essentiellement que les variétés à cycle long (cas de Duriac) conservent tardivement une activité physiologique, en moyenne, plus intense. Ceci les expose plus aux sécheresses de fin de cycle (Tableau 3).

Figure 2. Variation du rendement en grains au cours de deux années (95 et 96) chez quelques variétés de blé dur.

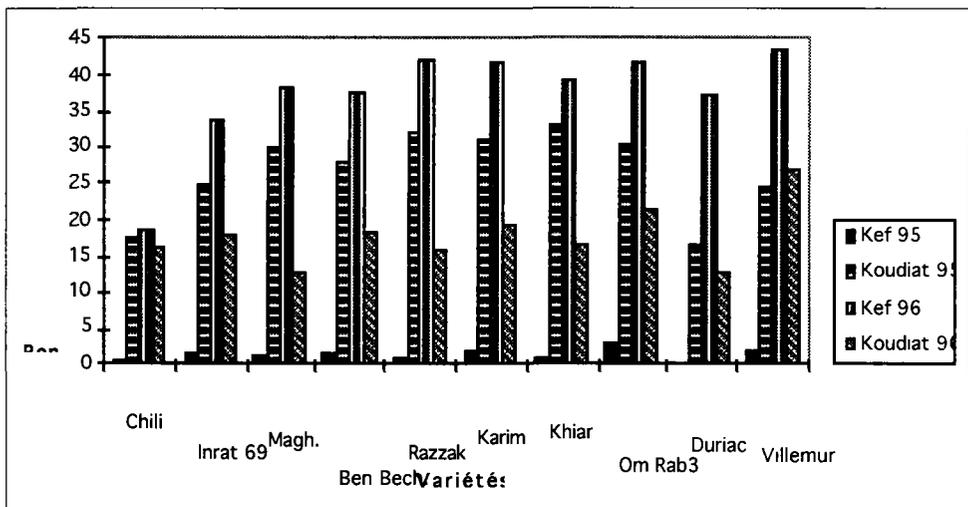


Tableau 2 : Analyse de variance relative aux variations du rendement en grains (Qx.Ha-1).

	Koudiat		Kef	
	94/95	95/96	94/95	95/96
ddl (total)	74	74	74	74
ddl (V)	24	24	24	24
F	3,77	5,28	0,92	6,87
PPDS (1%)	13,36	14,01	NS	16,29
CV%	14,70	21,56	79,00	11,50

Tableau 3 : Variation des échanges gazeux et de l'ensoleillement chez les variétés de blé dur : Duriac, Razzak, Karim et Khiar Bou Salem (semi-aride supérieur de la Tunisie, campagne 95/96).

	Variété			
	Duriac	Razzak	Karim	khia
Q ($\mu \text{ mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)	748	806	664	882
ψ_h (Mpa)	-1,67	-1,87	-1,86	-19,0
P ($\mu \text{ mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)	11,5	9,8	9,7	12,7
T ($\text{m mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)	2,7	2,3	2,2	2,3
Gs ($\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)	0,6	0,4	0,3	0,4

Paramètres précoces de sélection pour la résistance à la sécheresse

Ces mesures ont été réalisées pour un choix des paramètres les plus efficaces pouvant induire une pression suffisante pour départager un germoplasme donné. Des comparaisons entre les stades précoces et plus tardifs seront réalisées. Des approches avec les résultats de plein champ seront de même nécessaires.

- *Paramètres réalisés au stade de trois feuilles*

- *Potentiel hydrique de base et à 10h*

Les résultats relatifs à ces mesures montrent des effets significatifs de la variété, du traitement, du temps et de l'interaction temps x variété. (Tableau 4).

Nous notons essentiellement une baisse relativement importante du potentiel hydrique foliaire mesuré à 10 h (soit après 2 h d'éclairement) chez les variétés : Cham 1, JK1, JK2 et Karim. Les écarts sont surtout importants quand il s'agit du potentiel hydrique de base. Ceci peut dénoter une capacité plus grande d'extraire l'eau du sol chez ces variétés.

- *Indice et fréquence stomatique*

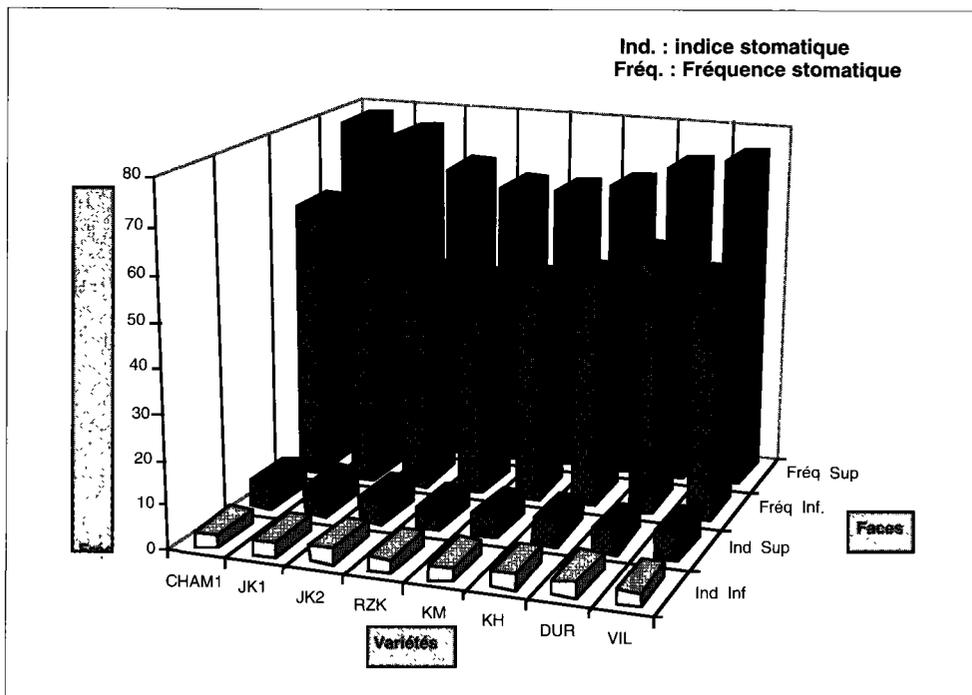
Les résultats montrent surtout des différences importantes et significatives entre la face supérieure et inférieure (Figure 3). La première étant plus riche en stomates que la seconde. Ces résultats confirment nos résultats antérieurs (Ben Salem, 1988). L'effet de la variété est aussi significatif. La face supérieure de JK1, JK2, Duriac et Villemur étant plus riche en stomates.

Tableau.4 : Variation du potentiel hydrique foliaire (ψ_h ; Mpa) de base et à 10h. chez huit variétés de BD en fonction de deux traitements, 70 % R.E.U. (Témoin) et 20 % R.E.U. (STR).

Variété	$\psi_h B$ (Mpa)		$\psi_h 10h$ (Mpa)	
	Témoin	Stressé (STR)	Témoin	Stressé (STR)
Cham 1	-0,51	-2,38	-0,90	-2,50
JK 1	-0,63	-2,40	-0,71	-2,55
JK 2	-0,61	-2,55	-0,80	-2,93
Razzak	-0,60	-1,78	-1,40	-2,10
Karim	-0,55	-2,11	-1,23	-2,16
khlar	-0,53	-1,50	-1,10	-2,20
Duriac	-0,43	-1,60	-0,66	-2,10
Villemur	-0,43	-1,56	-1,03	-2,03
ppds V (1%)		3,64		
ppds Tps (1%)		1,82		
ppds Tr. (1%)		1,82		
ppds VxTr (1%)		5,14		

Figure 3. Variation de l'indice et de la fréquence stomatiques en fonction des variétés et des faces.

- Stade 3 à 4 feuilles



- *Dessèchement foliaire en fonction du temps.*

. *Stade coléoptile (chambre de culture)*

L'examen de la **figure 4** montre des chutes significatives et plus grandes de TR chez les deux variétés **Razzak et Duriac**. Les différences sont surtout importantes au niveau de la phase de transpiration cuticulaire.

La variété Villemur qui a montré un comportement divergent au champ par rapport à Duriac, conserve des TR relativement plus élevées durant cette même phase.

. *Stade de trois feuilles (chambre de culture)*

Les résultats (**Figure 5**) montrent, dans ce cas aussi, un comportement divergent de **Duriac et de JK1** par rapport au reste des variétés. Villemur se classe toujours parmi celles qui conservent des TR élevées en fonction du dessèchement foliaire. **Son comportement divergent par rapport à Duriac est confirmé, aussi, au cours de ce stade.** Nous avons, toutefois, enregistré un renversement du comportement de Razzak.

. *Stade montaison (champ)*

Les faits saillants qui ressortent de l'examen de la **figure 6** se résument en ce qui suit :

- Même comportement de Duriac qui conserve un comportement divergent par rapport à Villemur.
- En moyenne une corrélation du comportement variétal entre le stade coléoptile et montaison (sauf le cas de razzak pour lequel nous avons enregistré un renversement de comportement entre les stades coléoptile d'une part et 3 feuilles, montaison d'autre part.

Figure 4. Variation de la teneur relative en eau (Log TR%) en fonction des variétés et du temps - Stade coléoptile.

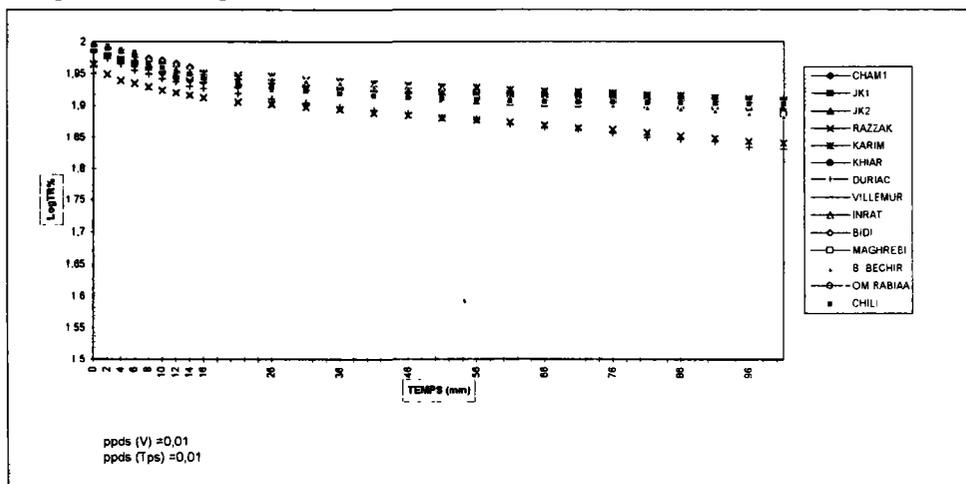


Figure 5. Variation de la teneur relative en eau (Log TR%) en fonction des variétés et du temps - Stade 3 à 4 feuilles.

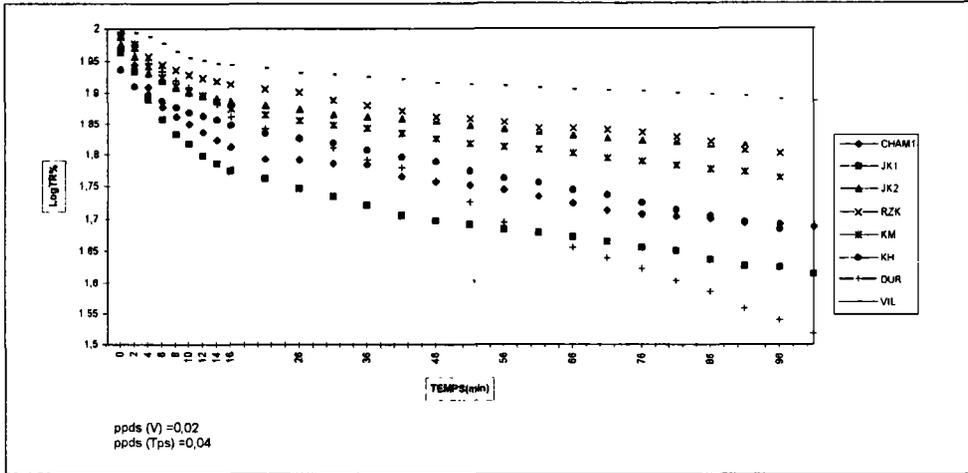
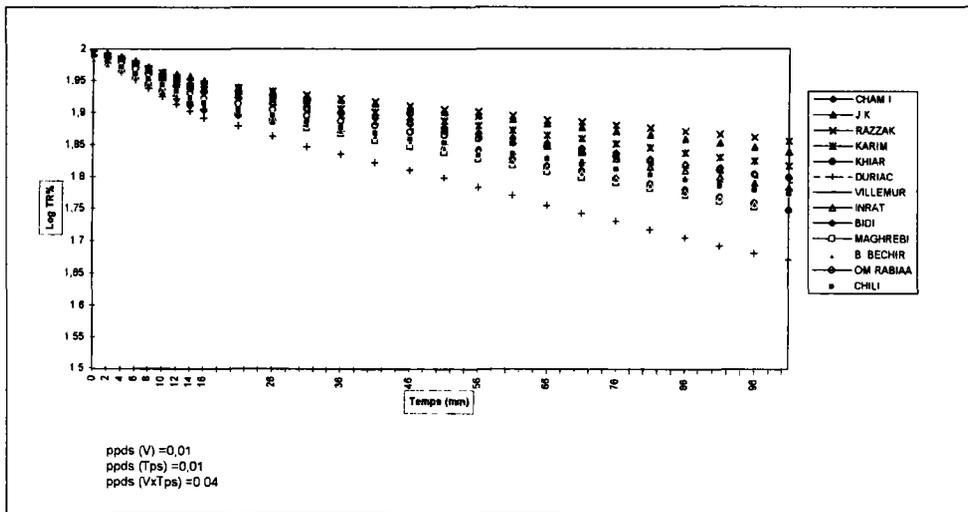


Figure 6. Variation de la teneur relative en eau (Log TR%) en fonction des variétés et du temps - Stade montaison.



- Intégrité cellulaire

Les résultats (Tableau 5) montrent en moyenne une dispersion des variétés en deux classes : les variétés tunisiennes ou d'Afrique du nord et les deux variétés françaises, Duriac et Villemur, qui montrent dans tous les cas une sensibilité plus grande de l'intégrité cellulaire vis-à-vis des deux contraintes appliquées. Ce comportement se répète pour les trois stades de mesure. Cette divergence est probablement due à l'effet de l'itinéraire de sélection, conditionné par l'effet du climat.

Par ailleurs, les variétés Villemur et Duriac conservent le même classement, quel que soit le stade de développement. Par contre les PD sont éq uivalents d'un stade à l'autre.

Tableau 5 : Variation des PD sous l'effet d'un choc osmotique par PEG 6000 ($\psi_s = - 3,2$ MPa) et d'un choc calorique ($T=50^\circ\text{C}$), en fonction de la variété et du stade de développement.

Variété	PEG 6000 ($\psi_s = - 3,2$ Mpa)			(T=50°C)		
	Coléoptile	3F	Montaison	Coléoptile	3F	Montaison
Cham 1	20,05	18,59	19,71	52,85	73,95	53,03
JK1	18,02	20,38		54,48	59,29	
JK2	14,49	17,45	16,72	51,45	76,36	49,78
Chili	22,76		20,11	59,28		56,30
Inrat 69	25,57		24,86	67,38		61,50
Maghrébi 72	21,91		19,21	55,79		54,93
Ben Bachir	25,02		17,65	63,45		54,61
Razzak	14,77	16,85	15,87	47,63	50,55	40,56
Karim	18,89	22,37	18,24	53,55	47,41	50,92
Khiar	18,23	19,91	17,79	52,31	76,08	51,49
Om Rabiaa 3	16,20		16,49	55,60		48,13
Duriac	55,74*	55,30*	46,23*	77,45*	84,78*	75,29*
Villemur	53,45*	48,08*	45,70*	73,06*	83,84*	72,37*
Moyenne	24,64	27,36	22,90	58,01	69,03	55,54
ppds V (1%)	15,57	7,56	7,10	16,06	19,56	10,55

DISCUSSIONS ET CONCLUSIONS

Un paramètre de sélection doit être simple à mesurer, reproductible d'un stade à l'autre et doit présenter, autant que possible, une corrélation avec la production en grains de la variété. Nos résultats sont ainsi comparés par rapport au comportement du matériel étudié en conditions contrôlées, semi-contrôlées et en plein champ.

Les mesures des échanges gazeux ont confirmé l'efficacité de l'utilisation de la précocité d'épiaison comme critère de sélection pour améliorer les productions dans les zones sèches.

Toutefois, ce résultat peut présenter un risque en cas de pluviosités tardives.

Par ailleurs, les critères utilisés, en conditions contrôlées, au niveau du stade de trois feuilles ont montré la possibilité de leur utilisation pour mettre en évidence des différences variétales. Ainsi, nous avons confirmé et vérifié (Ben Salem, 1988) essentiellement un effet face et un effet variété significatifs concernant la densité et la fréquence somatique. La face supérieure étant plus riche, en stomates, que la face inférieure. Nous avons démontré aussi des différences de ψ_h foliaire, de base et mesurés après deux heures d'éclaircissement. Les différences ont été plus grandes chez certaines variétés (cham1, JK1 et JK2). Ceci peut dénoter une capacité plus grande d'extraire l'eau du sol et des potentialités plus importantes d'ajustement osmotique. Néanmoins, ces critères sont soumis surtout en conditions de plein champ à un effet très significatif de l'environnement. Ceci minimise l'importance de leur utilisation comme critères de sélection fiables pour améliorer la résistance à la sécheresse d'un matériel végétal donné.

Les deux critères (PD et dessèchement de feuilles excisées) ont permis de classer les variétés étudiées en deux groupes.

Le premier a permis une classification suivant l'origine géographique en relation probablement avec l'itinéraire de sélection. Ainsi, les deux variétés françaises Duriac et villemur ont présenté

quel que soit le stade une intégrité cellulaire plus sensible aux effets des contraintes hydriques (PEG) et calorique (50°C).

Le deuxième critère a permis de départager le comportement de ces deux variétés. Duriac présentant dans tous les cas une transpiration cuticulaire plus intense que Villemur. Ce résultat semble être bien relié au comportement des deux variétés en plein champ. En effet, malgré une grande ressemblance phénotypique (port végétal, composantes du rendement et cycle de développement) Villemur a présenté une meilleure production en grains au cours d'une année exceptionnellement sèche (94/95) et exceptionnellement humide (95/96). Ce caractère a été utilisé efficacement par Vieira Da Silva (1967) pour classer des variétés de coton selon leur sensibilité à la sécheresse.

Ces deux caractères offrent plusieurs avantages : ils sont simples à mesurer, moins dépendants de l'effet de l'environnement (transpiration cuticulaire). Ils présentent aussi l'avantage d'un jugement quasi stable de la variété en fonction du stade de développement. Les simplifications réalisées concernant le premier critère (2° rapport de l'ARC) permettent de les utiliser efficacement comme paramètres de sélection précoce (stade coléoptile).

Le deuxième critère (moins rapide sur le plan de l'exécution) peut être amélioré par le choix de deux points représentatifs de l'évolution de la transpiration cuticulaire et servant au calcul d'un taux de transpiration relatif cuticulaire.

Bibliographie

1. BEN SALEM, M., DAALOUL A., AYADI A. 1995. Le Blé dur en Tunisie. Options méditerranéennes Série A: Séminaires Méditerranéens. n° 22.
2. BEN SALEM M. 1988. Étude comparative de la résistance à la sécheresse de quelques variétés de blé. Doc. d'état ès sciences. Univ. Paris VII-centre de Jussieu. 379p.
3. BLUM A. 1983. Genetic and physiological relationships in plant breeding for drought resistance Agri. Water Management, 7; 195-505.
4. DEMARLY Y., SIBI M. 1989. Amélioration des plantes et Biotechnologies. Sciences en marche. Ed. John Libbey EUROTEX. AUPELF.
5. ROGNON P., 1996. Sécheresse et aridité: leur impact sur la désertification au Maghreb. Sécheresse 7 : 287-297.
6. SRIVASTAVA J.P. 1984. Durum wheat: its world status and potential in the middle East and North Africa. Rachis, 3(1): 1-9.
7. VIEIRA DA SILVA. 1967. Contribution à l'étude de la résistance à la sécheresse dans le genre *Gossypium*. Transpiration de feuilles détachées et notion d'un indice de contrôle de la transpiration. Cot. Fib. Trop., Vol. XXII, Fasc. 2; 197-204.

C9 : Application de l'haplodiploïdisation par androgenèse *in vitro* pour l'amélioration de la tolérance aux basses températures chez le riz (*Oryza sativa* L.)

AMSSA M.¹, BOUHARMONT J.²

¹ Laboratoire des Biotechnologies Végétales. Fac. des Sc. Meknès. Maroc. ² Laboratoire de Cytogénétique. Univ. Catholique de Louvain. Croix du Sud 5. Belgique.

L'objectif de cette recherche est la sélection de mutations induites par la culture *in vitro* de cellules haploïdes de riz, pour l'amélioration de la tolérance des plantes aux basses températures. En effet, la culture de cellules est une source importante de variation, que ces cellules proviennent de tissus somatiques (variation somaclonale) ou de microspores haploïdes (variation gamétoclonale). L'utilisation de mutants permet de corriger ponctuellement une

variété déjà sélectionnée, la sélection *in vitro* est utile pour des mutations rares, parce qu'elle s'applique à un grand nombre de cellules, et l'utilisation des cellules haploïdes évite la dominance et conduit à l'isolement de mutants récessifs aussi bien que dominants. La première étape a été un test d'aptitude à la culture d'anthères (induction de cals et production de plantes vertes à partir des microspores). Deux variétés importantes au Maroc ont été choisies pour les expériences. Le niveau de ploïdie des plantes régénérées à partir de cals androgénétiques est variable. La fréquence des haploïdes est la plus élevée pour les anthères prélevées au début du stade microspore uninucléée. La pression de sélection est appliquée soit au moment de l'induction des cals, par culture d'anthères à 13°C, soit par culture à basse température, de cals propagés pendant 40 jours à 25°C. Dans le second cas, les cals sont maintenus pendant 6 mois à 13°C ou pendant 24 à 36 jours à 4°C. Dans ces conditions, les cals cessent de croître et, après un certain temps, la plupart dégèrent. Quelques-uns seulement poursuivent leur développement. Des plantes ont été régénérées à partir de certains cals survivants. Elles sont toutes diploïdes, elles proviennent des deux variétés et des deux modes de sélection. L'amélioration de la tolérance au froid est évaluée pendant la végétation (fluorescence de la chlorophylle, perte d'électrolytes et taux de survie), et à la floraison (germination du pollen). Trois lignées sont améliorées pour cette tolérance et celle-ci est parfois transmise par voie sexuelle.

C10 : Effets du NaCl et du polyéthylène glycol sur des cals de variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.) différant par leurs niveaux de résistance aux stress hydrique et salin

ALMANSOURI M., BAJJI M., KINET J.-M., LUTTS S.

Université catholique de Louvain, Laboratoire de Cytogénétique, Pl. Croix-du-Sud 5. Bte: 13. B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgique

Le blé est l'une des principales ressources alimentaires pour l'homme. Intensivement cultivé dans des zones arides et semi-arides, il y est fréquemment confronté au problème de salinité. D'après la F.A.O. et l'U.N.E.S.C.O., 10 millions d'hectares de terrains irrigués sont abandonnés chaque année en raison de l'accroissement de leur contenu en sel. Le NaCl induit deux stress : un stress ionique lié à la toxicité des ions Na⁺ et Cl⁻ et un stress hydrique lié à la diminution du potentiel hydrique du sol. Ainsi, le processus de salinisation, à court ou à long terme, engendre un processus de sécheresse et on ne peut concevoir une étude complète des effets de la salinité sans tenir compte de la composante hydrique de ce stress. L'étude comparative du comportement d'un végétal en présence de sel d'une part et en présence d'agents osmotiques tels que le mannitol, le sorbitol ou le polyéthylène glycol (PEG) d'autre part permet de faire la distinction entre les effets de la composante ionique et ceux de la composante osmotique du stress salin. Cependant, malgré l'abondance des travaux se rapportant à ce sujet, la relation entre résistance au stress hydrique et résistance au stress salin n'a pas été clairement établie, ni au niveau cellulaire ni au niveau de la plante entière. Pour une meilleure discrimination entre les effets des deux composantes du stress salin au niveau cellulaire, nous avons comparé le comportement *in vitro* de cals de blé dur en présence de NaCl ou de PEG-6000. Les cals sont issus d'embryons zygotiques matures provenant de 3 variétés de blé dur : Omrabi 5, résistante à la sécheresse ; Belikh, résistante à la salinité et Cando, sensible à la salinité. Ils ont été soumis au stress pendant un mois sur milieu LS modifié contenant du NaCl ou du PEG-6000 à des concentrations iso-osmotiques correspondant à des potentiels osmotiques de 0 ; -0,5 ; -1,0 et -1,5 MPa. La croissance des cals d'Omrabi 5 (résistante à la sécheresse) est la moins affectée

par le PEG tandis qu'en présence de NaCl, la croissance des cals de Cando (sensible à la salinité) est la plus faible. La teneur en eau des cals est plus fortement réduite par le stress osmotique que par le stress salin, néanmoins ce paramètre est affecté de la même manière chez les trois variétés. Un test de viabilité basé sur la réduction des sels de tetrazolium en formazan a mis en évidence le meilleur comportement des cellules des cals de Belikh (résistante à la salinité), que ce soit en présence d'un stress osmotique ou d'un stress salin. Une analyse minérale par spectrophotométrie de flamme en émission est actuellement en cours. Son but est de définir dans quelle mesure les deux stress affectent la teneur des cals en cations, essentiellement en Na^+ et en K^+ . Les résultats seront présentés.

C11 : Biotechnologie et protection intégrée à l'égard des virus d'une culture sèche méditerranéenne : le Pois chiche

AZMEH M.F.¹, MAKKOUK K.², KAWAS H.¹

¹Faculté d'Agronomie, Université de Damas, B.P. 30621, DAMAS. ²ICARDA, B.P. 5466. Alep SYRIE.

Parmi les légumineuses alimentaires, le Pois chiche (*Cicer arietinum L.*) occupe une place très importante dans les régions s'étendant de la Méditerranée à l'Inde. Si le problème pathologique majeur de cette culture reste l'Anthracnose causé par *Ascochyta rabiej*, elle est attaquée aussi par une trentaine de virus différents causant des dommages variables.

Notre étude a permis d'établir pour la Syrie, l'inventaire des virus du Pois chiche dont celui qui provoque le syndrome de rabougrissement (*Chickpea Stunt*). Il s'agit du virus de la jaunisse de la betterave (BWYV, *Luteovirus*). Le taux d'infection révélé par ELISA atteint son maximum dans la vallée du Ghab (36 %). Le virus de la mosaïque de la luzerne est également répandu.

En plus, la présence du virus de la jaunisse nécrotique de la fève (FbNYV) a été confirmée sur le Pois chiche. Les deux premiers virus ont été purifiés et les anti-séras correspondant obtenus. Ils ont permis un taux de détection expérimentale élevé dans les plantes et les insectes vecteurs.

L'épidémiologie de la souche locale du BWYV a été étudiée. La pathogénicité testée sur 23 espèces végétales appartenant à 6 familles a montré un large spectre de plantes-hôtes comprenant 13 légumineuses cultivées et sauvages, exhibant des symptômes de jaunisse plus ou moins marqués. Cinq hôtes étaient asymptomatiques. Les insectes vecteurs du même virus ont été identifiés. Dans des essais d'inoculation contrôlée, les pucerons les plus efficaces ont été : *Myzus persicae*, *Acyrthosiphon pisum* et *Aphis craccivora*. Nous avons prouvé en outre, que les principaux virus concernés ne sont pas transmis par la semence du Pois chiche, malgré les symptômes éventuels sur celle-ci. Par contre, plusieurs mauvaises herbes accompagnant la culture peuvent constituer un réservoir du virus ou/et héberger des insectes vecteurs. La résistance au BWYV de 254 génotypes comprenant 8 espèces sauvages de *Cicer* a été testée. Soixante-huit accessions ont pu être sélectionnées pour leur tolérance et mises à disposition du programme d'amélioration variétale.

C12 : Effets du stress salin sur la croissance et l'accumulation de solutés inorganiques et organiques chez *Atriplex halimus* L. : étude au niveau des cals cultivés *in vitro* et de plantes en hydroculture

BAJJI M., LUTTS S., KINET J.-M.

Université catholique de Louvain, Laboratoire de Cytogénétique, Pl. Croix-du-Sud 5, Bte : 13, B-1348 Louvain-la-Neuve (Belgique)

Atriplex halimus L. constitue une source importante de fourrage pour les ovins en régions aride et semi-aride, contribuant ainsi à l'alimentation des populations. C'est une plante bien adaptée à l'aridité et permet donc de valoriser les sols marginaux inaptes à la culture traditionnelle. Mais, la mauvaise gestion des parcours des troupeaux a conduit en bien des endroits à la dégradation des Atriplexaies nécessitant la mise en œuvre d'une politique de repeuplement avec des génotypes, à haute production de biomasse et à bonne palatabilité, résistants à la salinité. C'est dans ce cadre que nous avons entrepris une étude dont le but est de définir les mécanismes de résistance à la salinité. La culture *in vitro* de tissus indifférenciés et la culture hydroponique de plantes permettent une approche à la fois aux niveaux cellulaire et de la plante entière. Le stress a été appliqué de façon brutale en utilisant différentes concentrations de NaCl (0, 150, 300, 450 et 600 mM). L'étude au niveau cellulaire a été menée sur des cals initiés à partir de racines ou de feuilles de jeunes plantules et soumis au stress salin durant 30 jours. À 150 mM, le NaCl a un effet bénéfique sur la croissance des cals racinaires. Lorsque la concentration en sel augmente, la croissance des cals est réduite. D'autre part, les résultats obtenus indiquent qu'à l'issue de la période de stress, les concentrations en solutés organiques et inorganiques sont affectées, mais de manière variable selon la nature du soluté considéré. L'étude au niveau de la plante entière a été réalisée sur des individus qui, à l'âge d'un mois, ont été transférés en culture hydroponique durant 15 jours avant d'être soumis au stress salin durant 10 jours. Les analyses ont été effectuées séparément sur les racines et les feuilles, à l'issue de la période de stress. Mise à part une stimulation de la croissance de la partie aérienne en présence de NaCl à 150 mM, la croissance des plantes est d'autant plus réduite que la concentration en sel du milieu augmente. Les teneurs en solutés organiques et inorganiques sont influencées par le stress, leurs variations dépendent de la nature du soluté et de l'organe considéré.

En conclusion, chez *Atriplex halimus* L., les effets de la salinité sur les deux types de cals sont globalement comparables mais certaines différences d'ordre quantitatifs sont notées pour certains paramètres précis, surtout aux plus fortes doses. Ces effets sont, par contre, différents aux niveaux racinaire et foliaire de la plante entière. Les cals n'ont pas le même comportement que les organes dont ils proviennent et la composante cellulaire ne semble donc pas déterminante.

C13 : Sélection *in vitro* et caractérisation de lignées de blé dur (*Triticum durum* Desf.) résistantes à la sécheresse

BAJJI M., ALMANSOURI M., BOUHARMONT J., KINET J.-M., LUTTS S.

Université catholique de Louvain, Laboratoire de Cytogénétique, Pl. Croix-du-Sud 5, Bte : 13, B-1348 Louvain-la-Neuve (Belgique)

À la une des médias lors des catastrophes uniquement, la sécheresse représente cependant une contrainte permanente pour la production agricole dans plusieurs pays en voie de

développement et cause occasionnellement des pertes dans les pays développés. En Afrique du Nord, le déficit hydrique est considéré comme étant la contrainte climatique la plus importante. En effet, la production de plus de 75 % des 94 millions d'hectares cultivés est tributaire essentiellement des précipitations, faibles et irrégulières. Parmi les plantes cultivées pour l'alimentation de l'homme, le blé occupe actuellement la première place en ce qui concerne les surfaces cultivées, et la deuxième, après le riz, pour la quantité d'énergie qu'il procure. Plus de 90 % des surfaces productrices du blé dur dans le monde sont localisées en Méditerranée. Les conditions de culture y sont idéales pour la production de grains de haute qualité qui sont utilisés dans de multiples produits constituant la base de l'alimentation en bassin méditerranéen. Au Maroc, le blé dur entre dans la préparation du pain principalement, mais aussi du couscous, des pâtes alimentaires et d'autres produits traditionnels (Harcha, Crêpes, Bouillies, etc.). L'amélioration de la productivité du blé dur par la création de nouvelles variétés plus performantes et plus résistantes à la sécheresse est donc essentielle. La variation somaclonale liée à la culture *in vitro* constitue en ce domaine un outil novateur, d'autant plus intéressant pour l'améliorateur qu'elle s'applique à un grand nombre de cellules et surtout, qu'elle intervient concomitamment à l'application de pressions sélectives qui peuvent trier, voire même orienter les variations. L'objectif de notre travail est l'amélioration de la résistance à la sécheresse chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.) en utilisant la variation somaclonale, associée à la sélection *in vitro*, comme source de variation génétique. Trois variétés (Selbera, Sebou et Kyperounda), présentant la meilleure aptitude à la culture *in vitro*, ont été retenues pour la sélection. Trois méthodes de sélection ont été appliquées aux cals en présence de polyéthylène glycol 10 000 (PEG) : (1) une sélection de longue durée (6 mois) durant la phase de callogenèse et (2) durant la phase de régénération (2 mois) en présence de 25 % de PEG, et (3) une sélection de courte durée (1 mois) en milieu liquide (35 % de PEG) durant la phase de callogenèse. Sur les 30 plantules R_0 régénérées à partir des cals survivants, 13 ont montré une amélioration de la résistance par rapport aux variétés d'origine, sur la base de mesures de la fluorescence de la chlorophylle et des pertes d'électrolytes effectuées sur les feuilles soumises à un stress hydrique. L'autofécondation de ces plantes R_0 a donné au total 40 plantes R_1 dont 18 présentent une amélioration du comportement vis-à-vis du stress. Ensuite, 69 parmi 133 plantes R_2 ont été retenues sur base d'une moindre perte d'électrolytes comparées aux variétés de départ. Quatre paramètres d'importance capitale pour la résistance à la sécheresse ont été utilisés pour la poursuite de la caractérisation et le criblage des lignées aux générations R_3 et R_4 , à savoir la fluorescence de la chlorophylle, la stabilité membranaire, la résistance stomatique et la précocité. L'amélioration liée à ces 4 paramètres s'est maintenue chez les 2 lignées Sel 36 et Kyp 19 issues respectivement des variétés Selbera et Kyperounda. Des améliorations de 3, 2 et 1 paramètres sont détectées chez 19, 27 et 8 lignées respectivement. Enfin, 2 lignées ne présentent plus d'amélioration par rapport aux variétés de départ. En R_4 , Les 2 lignées Sel 36 et Kyp 19 ont été évaluées, sur base des mêmes paramètres, comparativement aux variétés parentales. Tous les tests, mis à part celui de la stabilité membranaire, ont révélé que leur résistance au stress hydrique est toujours supérieure à celle des variétés d'origine.

En conclusion, différentes lignées somaclonales ayant montré une amélioration de la résistance à la sécheresse ont été sélectionnées. Les mécanismes impliqués dans cette amélioration varient d'une variété sur l'autre et sont encore détectables à la génération R_4 . Une application du stress hydrique au niveau de la plante entière est nécessaire pour une étude plus approfondie aux niveaux morphologique, biochimique, physiologique et phénologique.

C14 : Effet d'un stress hydrique sur l'accumulation de proline, de chlorophylle et des ARNm qui codent pour la glutamine synthétase chez des variétés de blé dur (*Triticum durum*)

BELABED A., SADKI K., HTAHRI E.

Université Mohamed Premier, Faculté des Sciences, Département de Biologie, Laboratoire d'Amélioration et de Production Végétales, B.P. 524 - 60.000 Oujda - Maroc

L'application d'un stress hydrique prolongé provoque une augmentation significative de la teneur en proline foliaire chez trois variétés de blé dur (TASSAOUT, COCORIT et ACSAD 65). La reprise de l'irrigation après 15 jours de stress entraîne une diminution rapide de cet acide aminé. Parallèlement à l'augmentation de la teneur en proline foliaire, une diminution de la teneur en chlorophylles a été observée chez les plantes ayant subi un stress hydrique ou osmotique par le PEG 6000. Ce qui montre l'étroite relation entre la biosynthèse de la proline et celle de la chlorophylle. Ces deux composés sont en compétition pour leur précurseur commun qui est le glutamate. Le contrôle de l'accumulation de la proline s'effectue également au niveau de l'activité glutamine synthétase (GS), enzyme impliquée avec la glutamate synthase GOGAT dans la biosynthèse du glutamate. En effet cette enzyme voit son activité diminuer sous l'effet d'un stress osmotique.

Par ailleurs, le niveau des transcrits ARNm (A^+) diminue suite à un traitement des plantes par le PEG 6000. Ceci explique en partie la diminution de l'activité GS observée au préalable et montre à quel niveau le stress hydrique peut affecter le métabolisme de la plante et des gènes qui codent pour la GS vraisemblablement impliquée dans la réponse au stress.

C15 : Quelques méthodes traditionnelles simples de lutte contre les attaques de plants en pépinière ou en plantation au Burkina Faso

DA E.S., SARY H.

Centre National de Semences Forestières, 01 B.P. 2682 Ouagadougou 01, Burkina-Faso

Les méthodes chimiques de lutte contre les attaques de plants en pépinière ou en plantation, utilisées de nos jours au Burkina Faso, ne sont pas totalement maîtrisables pour les paysans.

De plus, les produits employés, non seulement ne sont pas à la portée des paysans, du fait de leur coût élevé, mais aussi constituent un réel danger pour la sauvegarde de l'environnement.

Les producteurs du Burkina Faso, pour lutter contre les ennemis des plants en pépinière ou en plantation, font appel à des méthodes traditionnelles mises au point à partir de leur savoir-faire.

Notre étude a consisté à recenser ces méthodes dans le but d'estimer les avantages et les inconvénients qu'elles présentent. Près d'une cinquantaine de méthodes ont été inventoriées parmi lesquelles certaines se sont montrées très efficaces pour lutter contre les attaques d'insectes, de reptiles, de rongeurs, d'animaux et autres champignons pathogènes. C'est le cas d'une plante comme *Azadirachta indica* (Neem) dont l'utilisation permet de limiter sensiblement les dégâts dus aux ennemis des plants.

La présente communication est l'aboutissement d'une enquête menée pendant des années dans plusieurs localités du pays.

La prochaine démarche va consister à comparer les différentes méthodes en vue de sélectionner les plus performantes et de les vulgariser aux producteurs.

C16 : Impact des antiéthylènes, des antigibérellines et des cytokinines dérivées de la diphénylurée sur la régénération de plantes à partir d'embryons immatures de maïs avant et après la sélection *in vitro* sur ABA

DIENG H.¹, COLLIN J.², COMEAU A.³

¹ Faculté des Sciences et Techniques. Département de Biologie, Université de Nouakchott. B.P. 5026. R.I. Mauritanie. ² Faculté des Sciences de l'Agriculture et de l'Alimentation. Département de Phytologie. Université Laval, Québec GIK 7P4, Canada. ³ Centre de Recherche Agriculture et Agro-alimentaire Canada, 2560 Boul. Hochelaga, Ste-Foy, Québec G1V2J3, Canada

Le nombre de plantes régénérées, ayant le caractère recherché et fertile, limite les applications de la sélection *in vitro* à partir des cals d'embryons immatures surtout chez les céréales. La compétence à la régénération dépend en partie de la présence endogène des régulateurs de croissance dont le niveau varie avec l'âge de la plante. Il faut noter d'autre part que la quantité de cal initié et la formation d'embryons somatiques peuvent dépendre de l'environnement gazeux, surtout du niveau de l'éthylène dans les boîtes de pétri.

Dans le but d'améliorer la régénération, après la sélection *in vitro* de cals résistants à l'ABA, nous avons étudié l'impact de certaines substances sur la morphogenèse *in vitro* en utilisant des embryons et des cals d'embryons immatures de maïs.

Ainsi, nous avons montré que la compétence des cals d'embryons immatures à produire des plantules peut être améliorée en utilisant des antiéthylènes et des antigibérellines. Le chlorure de cobalt (CoCl₂) a été la meilleure substance favorisant la régénération de plantules de maïs à partir des cals d'embryons immatures.

Nous avons également comparé l'influence des doses croissantes de cytokinines dérivées de la diphénylurée sur la régénération des plantules à partir des cals d'embryons immatures de maïs. Le thidiazuron (TDZ), une cytokinine dérivée de la diphénylurée a été efficace pour stimuler la régénération des plantes, mais a diminué l'enracinement des plantes régénérées.

Pour étudier l'impact du TDZ et du CoCl₂ sur la régénération avant et après la sélection à l'ABA, nous avons ajouté ces substances dans un milieu de culture en présence ou en absence de l'ABA. Nous concluons que la combinaison TDZ + CoCl₂ favorise la régénération surtout si elle est ajoutée dans le milieu précédent la régénération ou dans le milieu de régénération. La combinaison a été moins utile si on l'ajoute avant les deux cycles de sélection. L'ABA comme agent de sélection est peu influencé par la combinaison TDZ + CoCl₂.

L'introduction TDZ + CoCl₂ au 40^e jour, aux doses choisies, a donné de très bons résultats chez le maïs, avec ou sans ABA. Nous suggérons de combiner le traitement TDZ + CoCl₂ avec la sélection *in vitro* à l'ABA.

C17 : Amélioration génétique de la production de l'orge (*Hordeum Vulgare* L.) en zones semi-arides d'Algérie : sélection pour le rendement, la précocité, la biomasse et l'indice de récolte

DJEKOUN A., BOUZERZOUR H.

UFR de génétique et Amélioration des Plantes, Institut des Sciences de la Nature, Université de Constantine, Route Ain El Bey, 25000 Constantine, Algérie

Cette étude menée sur une période de 10 ans et sur 80 lignées fixées et 360 lignées en ségrégation a pour objectif d'étudier les possibilités de sélectionner des génotypes d'orge (*Hordeum vulgare* L.) performants et stables pour les zones semi-arides d'altitude d'Algérie, caractérisées par un climat très instable. Le matériel végétal utilisé comprend des génotypes de races locales, du Moyen Orient, et de l'Europe.

La sélection pour le rendement au niveau de cet étage bioclimatique est confrontée à des interactions G x E très importantes, ayant pour conséquences la réduction du progrès génétique réalisable. Les interactions sont en partie dues à la variabilité du nombre de grains par épis, variabilité causée par le gel tardif. Une stratégie est proposée, pour réduire les effets de ces interactions par une sélection avec adaptation spécifique. Les effets du site de sélection en général et les critères de choix du site les plus favorables à l'identification de génotypes plus adaptés sont aussi discutés.

Suite à la variabilité du rendement des cultivars issus de sélection directe, la sélection indirecte est alors envisagée. Les résultats indiquent que la biomasse et l'indice de récolte peuvent contribuer à l'amélioration et la régularité du rendement, si cette sélection est pratiquée sur du matériel peu variable du point de vue précocité, dont le seuil critique et le témoin standard sont proposés.

Le déterminisme génétique de la biomasse et de l'indice de récolte est étudié. Les résultats montrent qu'il est de nature non additive. Les gèneurs avec une bonne aptitude générale à la combinaison pour ces caractères sont aussi identifiés. Les liaisons de ces deux caractères avec le rendement et entre eux et la nature de leur déterminisme génétique, montrent que l'efficacité de la sélection précoce monocaractère est réduite. Aussi la sélection sur index est proposée comme alternative à appliquer sur du matériel plus âgé, et plus homozygote. Enfin, tenant compte des résultats de cette étude, un schéma de sélection est proposé.

C18 : Réaction des blés marocains (*Triticum* spp) à l'inoculation par des spores et filtrats de culture de quatre groupes de virulence de *Pyrenophora tritici repentis*

DOUIMI R.¹, JLIBENE M.²

¹ Laboratoire de Biotechnologie et Amélioration des Plantes, Faculté des Sciences, Université Moulay Ismaïl, Meknès, Maroc.

² Institut National de la Recherche Agronomique, BP 578, Meknès, 50000, Maroc.

La tache bronzée, causée par *Pyrenophora tritici repentis* (stade sexué de *Drechslera tritici repentis*) est une maladie foliaire importante sur le blé, au Maroc. La mise en évidence de

quatre groupes de virulence du champignon et du rôle des toxines dans l'infection, nous a incité à évaluer les variétés marocaines vis-à-vis de ces différents groupes et de leur filtrats de culture.

Quarante-six variétés marocaines de blé (*Triticum aestivum* et *T. durum*) inscrites au catalogue officiel, ont été inoculées par une suspension de spores de quatre groupes de virulence, au stade plantule. La période d'incubation et la surface foliaire nécrosée ont été mesurées. Parmi ces variétés, 12 ont été inoculées à la fois par le champignon et par son filtrat de culture.

Les variétés ont différé significativement dans leur réaction à l'infection. Des variétés à niveau appréciable de résistance aux quatre groupes de virulence ont été identifiées (Kanz, Rajae, Tilila et Karim). La période d'incubation du champignon et la surface foliaire nécrosée étaient indépendantes, cette dernière ayant permis une meilleure discrimination entre les variétés.

Des réactions de chlorose et de nécrose, obtenues après infiltration par les filtrats, ont été fortement corrélées avec la surface foliaire nécrosée obtenue après inoculation par les spores, indiquant que l'infection fait intervenir des substances toxiques. Par contre, les périodes d'incubation du filtrat et du pathogène n'étaient pas corrélées. La possibilité d'utilisation du filtrat de culture dans les travaux de sélection est proposée.

C19 : Hérité des composantes de la résistance partielle à *Septoria tritici* chez le blé (*Triticum aestivum* L).

EL BOUAMI F.¹, JLIBENE M.²

¹ Laboratoire de Biotechnologies et Amélioration des Plantes, Faculté des Sciences, Université Moulay Ismail, BP 4010, 50000 - Meknès, Maroc.

² Programme Bour Favorable, Centre Régional de la Recherche Agronomique du Saïs et Moyen Atlas, BP 578, 50000 - Meknès, Maroc.

L'hérité de quatre composantes de la résistance à *Septoria tritici* : période d'incubation (PI), période de latence (PL), surface foliaire nécrosée (SFN) et densité pycnidiale (DP) a été étudiée. Le test de six générations parent 1, parent 2, F1, F2, BC1 et BC2, de quatre croisements entre génotypes de blé tendre (un sensible et quatre résistants) testées au stade plantule avec deux isolats de *Septoria tritici* a indiqué une simple hérité Mendélienne de toutes les composantes. La longue période d'incubation (PI) est sous contrôle de deux gènes complémentaires. La longue période de latence (PL) et la faible densité de pycnides (DP) sont contrôlées par un gène dominant. La faible surface foliaire nécrosée (SFN) est contrôlée par un gène dominant ou deux gènes épistatiques selon les génotypes. L'étude des corrélations phénotypiques entre les composantes de la résistance chez les parents et les générations filiales suggère que la PL, SFN et la DP représentent des effets pléiotropiques du même gène, tandis que la PI est indépendante des autres composantes.

C20 : Étude des composantes de la résistance partielle de 16 génotypes de blé (*Triticum aestivum* L.) vis-à-vis de 27 isolats de *Septoria tritici*

EL BOUAMI F.¹, JLIBENE M.²

¹ Laboratoire de Biotechnologies et Amélioration des Plantes, Faculté des Sciences, Université Moulay Ismail, BP 4010, 50000 - Meknès, Maroc.

² Programme Bour Favorable, Centre Régional de la Recherche Agronomique du Saïs et Moyen Atlas. BP 578, 50000 - Meknès, Maroc.

La période d'incubation (PI), la période de latence (PL), la surface foliaire nécrosée (SFN) et le recouvrement pycnidial (RP) ont été évalués chez seize génotypes de blé tendre inoculés avec vingt-sept isolats de *Septoria tritici*. Des effets génotype, isolat et interaction génotype x isolat ont été observés pour les quatre paramètres, indiquant une interaction différentielle dans le pathosystème *Triticum aestivum*-*Septoria tritici*. Les génotypes résistants (Nasma*2/14-2, Vee's/Snb's', Saada et Tegzey) ont eu de longue PI et PL, et des SFN et RP réduits. Le génotype le plus sensible, Nasma, est caractérisé par de courtes PI et PL, des taches nécrotiques larges, coalescentes, et complètement recouvertes de pycnides. Un isolat obtenu à partir d'un blé dur s'est révélé avirulent sur les 16 génotypes de blé tendre.

C21 : Sélection *in vitro* pour la résistance à la fusariose de l'épi chez le blé

EUDES F., COLLIN J., ROUX S., COMEAU A.

Département de Phytologie, Université Laval, G1V 4G6, Québec, Canada, Tél : 1 (418) 656 2395, E-mail : Francois.Eudes@fsaa.ulaval.ca

La fusariose de l'épi chez le blé cause des pertes très importantes dans l'Est du Canada. Les agents responsables sont des champignons du genre *Fusarium* (stade sexué : *Gibberella*). Ils entraînent une perte de rendement et une perte de qualité par l'accumulation d'aérogènes et de trichothécènes dans les grains. De nombreuses études tendent à montrer que ces trichothécènes, inhibitrices de la synthèse des protéines chez les eucaryotes, sont impliquées dans la pathogenèse bien que parfois les corrélations entre leur concentration et l'importance des symptômes soient faibles. On distingue deux groupes de trichothécènes : les principaux représentants pour le premier groupe sont le déoxynivalenol (DON), l'acetyldéoxynivalenol (ADON) et le nivalenol (NIV); pour le second groupe ce sont la toxine T2, la toxine HT2 et le diacétoxyscirpenol. *In vitro*, nous avons montré que ces métabolites secondaires ont une phytotoxicité très différente : le DON et l'ADON sont les plus toxiques, mais le sont encore moins qu'un filtrat de culture de *Fusarium graminearum*. Un tel filtrat renferme une quantité très importante de métabolites secondaires aux groupements de base parfois très proches de ceux des trichothécènes, mais souvent inconnus. Plusieurs auteurs ont proposé de décomposer la résistance globale à la fusariose en trois composantes, dont une directement liée aux mycotoxines, soit : (1) la résistance à l'infection (pas de résistance génétique connue), (2) la résistance à la propagation du pathogène et (3) la tolérance ou l'aptitude à dégrader les

trichothécènes. L'inoculation de génotypes ayant des sensibilité différente à deux souches de *Gibberella zea*, dont l'une ne produit pas de trichothécènes, nous a permis de confirmer le rôle des mycotoxines dans le développement de la maladie ; mais aussi, de prouver qu'il existe une variabilité génétique pour les résistances de type 2 et de type 3 qui pourraient être utilisées en l'amélioration génétique. Les tests *in vitro* de phytotoxicité de mélanges de trichothécènes permettent de distinguer des génotypes de sensibilités différentes pour la troisième composante de la résistance à la fusariose de l'épi. Les mycotoxines, utilisées en sélection *in vitro* permettent d'éliminer les génotypes de faible résistance de type 3. La méthodologie de sélection *in vitro* est compatible avec les très grandes populations de gamétophytes mâle (microspores) générées par les techniques d'androgenèse. De plus, chaque génotype étant haploïde et représenté par une cellule, toutes les différences génétiques sont exprimées. La sélection *in vitro* des microspores nous permet d'exploiter la variabilité produite par recombinaison génétique.

C22 : Effet de l'application foliaire de IAA et GA₃ et leur interaction sur la croissance du blé (*Triticum durum* Desf. var Leucomilan, AL) en conditions de salinité

GHERROUCHA H.¹, DJEKOUN A.²

¹ Laboratoire de Physiologie Végétale, I.S.N. Constantine, Algérie

² Laboratoire d'Amélioration des plantes, I.S.N. Constantine, Algérie

Le but de ce travail est de connaître l'effet de l'interaction de l'acide indole acétique (IAA) et de l'acide gibbérelle (GA₃) (200 Ppn) sur le développement, la production et certains caractères physiologiques du blé élevé sous des conditions de salinité (eau de mer diluée à 60 %, 30 %, 10 %) plus le contrôle des résultats obtenus sont les suivants :

- 1) Une diminution continue du poids frais, du poids sec et de production finale de la plante en fonction de l'augmentation des concentrations du sel pendant le cycle de la plante.
- 2) Un effet négatif sur le nombre et la surface des feuilles, ainsi que le nombre de tiges.
- 3) Une augmentation de la teneur en proline en fonction de l'augmentation des concentrations du sel, ce qui veut dire que la plante a une résistance envers la salinité.
- 4) L'application foliaire et simultanée de phytohormone (IAA, GA₃) entraîne une diminution de l'effet négatif du sel sur le développement.
- 5) Par ailleurs l'application du GA₃ seule a montré l'effet remarquable sur l'interaction entre les deux hormones.

C23 : Effet du Biobras-6 sur la régénération *in vitro* chez la canne à sucre sous stress hydrique

GONZALES S.¹, DUCREUX G.², ERNESTO G.¹, FRANCISCO C.³

¹ Lab. De Biotechnologia Vegetal, Dpto. De Biologia Vegetal, Fac de Biologia. Universidad de la Habana, 10400 Cuba.

² Université Paris-Sud, Lab. de Morphogenèse Végétale Expérimentale. Bât 360.
91405 ORSAY Cedex, France.

³ Lab Productor Naturales, Fac. de Quimica, Universidad de la Habana, 10400 Cuba.

La régénération *in vitro* chez la canne à sucre est obtenue à partir de cals cultivés dans les milieux différents supplémentés avec AIA, KIN et Biobras-6. Le Biobras-6 est un analogue de brassinosteroid synthétique qui stimule la régénération et le développement des tiges. Les cals traités avec mannitol (pour les conditions de stress hydrique) ont produit des plantes plus vigoureuses après leur culture dans le milieu avec le Biobras-6.

C24 : Identification et étude de la variabilité des principaux virus du piment en Tunisie

GORSANE F., FAKHFAKH H., MAKNI M., MARRAKCHI M.

Laboratoire de Génétique et de Biologie Moléculaire, Faculté des Sciences de Tunis. 1060 Tunis.
TUNISIE

Les atteintes virales constituent une contrainte sévère sur les cultures maraîchères. Quinze groupes taxonomiques de virus transmis par les insectes, par contact physique ou par le sol ont été identifiés sur le piment et la tomate, considérés parmi les solanacées les plus cultivées. Les virus provoquent des symptômes dont la sévérité dépend de plusieurs facteurs tels que la virulence de la souche virale, l'âge de la plante et son niveau de résistance ainsi que les conditions environnementales. Étant donné les dégâts considérables occasionnés sur les cultures maraîchères, plusieurs stratégies de lutte agissant sur les sources de virus et l'activité des vecteurs ont été adoptées. À côté des moyens de lutte traditionnelle, une stratégie de lutte intégrée pour prévenir les maladies virales a été mise au point par la construction de nouvelles variétés résistantes. Or, le plus souvent, le virus contourne cette résistance et l'apparition de nouvelles souches virales adaptées et plus virulentes rend cette stratégie risquée. C'est pourquoi de nouvelles stratégies basées sur les techniques de génie génétique et qui consistent à créer des plantes transgéniques résistantes sont actuellement de plus en plus utilisées. En effet, des plantes de tabac exprimant le gène de la protéine capsid de plusieurs phytovirus montrent une résistance contre toute infection par ces virus. Adopter ces stratégies nécessite évidemment une bonne connaissance du génome viral et des interactions entre le virus et l'hôte.

En Tunisie, l'extension des surfaces irriguées et sous abritées a fait des cultures maraîchères un atout de taille dans l'économie du pays. Le piment constitue l'une des espèces les plus cultivées avec une production annuelle de 190 000 tonnes pour 17 000 hectares (FAO, 1992). Toutefois, le rendement de ces cultures accuse souvent des baisses considérables dues

essentiellement aux maladies virales. L'identification, par les voies biologique et sérologique, des agents viraux appartenant aux familles des Potyvirus, Cucumovirus et Tobamovirus qui sévissent sur les cultures de piment montre la présence des virus communs tels que le PVY (virus Y de la pomme de terre) et le CMV (virus de la mosaïque du concombre) qui sont transmis par les pucerons et le TMV (virus de la mosaïque du tabac) qui est transmis mécaniquement. Contre toute attente, d'autres virus inféodés à d'autres régions tels que le Poty E, le TEV (virus de la gravure du tabac) et le PVMV (virus de la marbrure nervaire du piment) sont identifiés pour la première fois en Tunisie. Les stratégies de lutte devraient par conséquent tenir compte de cette nouvelle donnée. Les résultats de l'analyse de la variabilité moléculaire par RT-PCR associée à la RFLP des virus les plus fréquents sera discutée.

C25 : Essai de mise au point d'un test précoce *in vitro* pour évaluer la résistance de la pomme de terre au *Verticillium dahliae* Kleb

JADARI R.¹, ROSSIGNOL M.², BIROUK A.¹, SIHACHAKR D.², LEGRAND F.³, CHLYAH H.⁴,
DUCREUX G.²

(1) IAV Hassan II, Laboratoire de Phytogénétique et Biotechnologie Végétale, BP 6202 Rabat, Maroc.

(2) Université Paris XI, Laboratoire de Morphogenèse Végétale Expérimentale Bât. 360, 91405 Orsay France.

(3) Université Paris XI, Laboratoire de Cryptogamie Bât. 400, 91405 Orsay France.

(4) Université Mohamed V, Faculté des Sciences, Laboratoire de Physiologie Végétale, Rabat

L'étude de la résistance de trois variétés de pomme de terre (Désirée, Kathadin et Nicola) a été menée à la fois au champ et *in vitro* pour analyser les corrélations entre les résultats d'expérimentation en plein champ suite à l'inoculation des plantes avec les conidies du champignon *Verticillium dahliae* Kleb et ceux obtenus *in vitro* avec le filtrat du même champignon.

Lors de l'étude au champ, l'impact de l'altération foliaire sur la production a été évalué. La perte est de l'ordre de 48 % chez Désirée, 43 % chez Kathadin et 37 % chez Nicola.

Dans l'essai *in vitro*, le filtrat de *Verticillium dahliae* a provoqué les mêmes symptômes de la verticilliose chez la pomme de terre que les conidies du champignon au champ. La concentration du filtrat s'est avérée un facteur très important à maîtriser pour bien évaluer la résistance de la pomme de terre au *V. dahliae*. La toxicité du filtrat dépend de la souche, de la variété et de la concentration utilisée. Une bonne corrélation a été établie entre la sensibilité au filtrat *in vitro* et les pertes du rendement en tubercules au champ.

En vue de confirmer ces résultats, 7 clones dihaploïdes de la variété Nicola ont été testés pour leur résistance au *Verticillium* (filtrat-*in vitro* et conidies-serre). Les dihaploïdes présentent une gamme diversifiée de résistance allant des clones modérément résistants aux clones sensibles.

Mots clés : *S. tuberosum*, *Verticillium dahliae* KLEB, conidie, filtrat, rendement, résistance, *in vitro*, champ, symptômes, foliaires.

C26 : Réaction des blés marocains (*Triticum* spp) à l'inoculation par des spores et filtrats de culture de quatre groupes de virulence de *Pyrenophora tritici repentis*

JLIBENE M.¹, DOUMI R.²

¹ Institut National de la Recherche Agronomique, BP 578, Meknès, 50000, Maroc.

² Laboratoire de Biotechnologie et Amélioration des Plantes, Faculté des Sciences, Université Moulay Ismail, Meknès.

La tache bronzée, causée par *Pyrenophora tritici repentis* (stade sexué de *Drechslera tritici repentis*) est une maladie foliaire importante sur blé, au Maroc. La mise en évidence de quatre groupes de virulence du champignon et du rôle des toxines dans l'infection, nous a incité à évaluer les variétés marocaines vis-à-vis de ces différents groupes et de leur filtrats de culture. Quarante-six variétés marocaines de blé (*Triticum aestivum* et *T. durum*) inscrites au catalogue officiel, ont été inoculées par une suspension de spores de quatre groupes de virulence, au stade plantule. La période d'incubation et la surface foliaire nécrosée ont été mesurées. Parmi ces variétés, 12 ont été inoculées à la fois par le champignon et par son filtrat de culture. Les variétés ont différé significativement dans leur réaction à l'infection. Des variétés à niveau appréciable de résistance aux quatre groupes de virulence ont été identifiées (Kanz, Rajae, Tilila et Karim). La période d'incubation du champignon et la surface foliaire nécrosée étaient indépendantes, cette dernière ayant permis une meilleure discrimination entre les variétés. Des réactions de chlorose et de nécrose, obtenues après infiltration par les filtrats, ont été fortement corrélées avec la surface foliaire nécrosée obtenue après inoculation par les spores, indiquant que l'infection fait intervenir des substances toxiques. Par contre, les périodes d'incubation du filtrat et du pathogène n'étaient pas corrélées. La possibilité d'utilisation du filtrat de culture dans les travaux de sélection est proposée.

C27 : Hérité de la résistance à *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) Schroeter (*Septoria tritici* Rob. ex Desm.) chez le blé tendre

MAZOUZ H.¹, SAADAQUI EI M.², JLIBENE M.³

¹ Faculté des Sciences et Techniques d'Errachidia, Université Moulay Ismail, Maroc.

² Faculté des Sciences, Université Moulay Ismail, Meknès, Maroc.

³ Institut National de la Recherche Agronomique, Meknès, Maroc.

La spécialisation physiologique de *Septoria tritici* a été étudiée et signalée dans plusieurs pays dont le Maroc. Le présent travail a pour objectif d'étudier la génétique de la relation entre huit groupes de virulence de *S. tritici*, identifiés au Maroc, et neuf génotypes de blé tendre utilisés comme différentielles. La réaction des plantes des populations : parents, F1, BC1, BC2 (croisements en retour avec les deux parents) et F2 de 29 croisements a été étudiée. Les plantes des populations F1 des croisements entre génotypes hôtes résistants et sensibles ont une réaction qui se rapproche de celle de l'un des parents. La résistance des génotypes de blé tendre à *S. tritici* est sous un contrôle génétique simple (intervention d'un ou de deux gènes). Le nombre de gènes et leurs interactions varient d'un génotype à l'autre. L'effet maternel a été mis en évidence chez certains génotypes hôtes.

C28 : Quelques analyses concernant la physiologie des plantes régénérées dans des conditions de sélection *in vitro* chez le blé tendre

MIHAMOU A.Z.¹, BELABED A.¹, IBRIZ M.³, MONNEVEUX P.³, PICARD E.²

¹Faculté des Sciences, Département de Biologie, Laboratoire d'amélioration et de production végétales.

60000 Oujda Maroc. ²Laboratoire de Morphogenèse Végétale Expérimentale, Bat 360 F 91405 Orsay

France. ³ENSAM/INRA, 2 Place Viala 34060 Montpellier France

Les plantules androgénétiques régénérées dans les conditions de sélection *in vitro* au stade anthère, à 35°C/3h, 40°C/3h et dans les conditions témoins ont fait l'objet de deux tests physiologiques.

Le premier test est le dosage de la teneur en proline foliaire suite à un choc thermique de 40°C/6 h. Ceci a permis de constater que la pression de sélection *in vitro* ne provoque aucun effet significatif sur la teneur en proline foliaire chez les plantules issues des lignées fixées. Par contre, chez les plantules issues des hybrides F1, la teneur en proline foliaire varie en fonction de la température de sélection *in vitro*. Dans ce dernier cas, la teneur en proline augmente avec l'augmentation de la température de sélection *in vitro*.

Le deuxième test utilisé est la mesure de la fluorescence chlorophyllienne continue suite à un choc thermique de 40°C/15 h. Comme pour le dosage de la proline, ce test révèle un effet significatif de la sélection *in vitro* uniquement dans le cas des hybrides F1. Les plantules issues de la condition de pression de sélection *in vitro* de 40°C/3h semblent être les moins affectées par le choc thermique de 40°C/15h appliqué avant la mesure de la fluorescence chlorophyllienne continue.

Mots clés : Sélection *in vitro*, tests physiologiques, teneur en proline foliaire, fluorescence chlorophyllienne continue, choc thermique.

C29 : Application des hautes températures comme pression de sélection au cours de l'androgenèse *in vitro* chez le blé tendre (*Triticum aestivum* L.)

MIHAMOU A.Z.¹, PICARD E.², BELABED A.¹, EL JAAFARI S.³

¹ Faculté des Sciences, Département de Biologie, Laboratoire d'amélioration et de production végétales. 60 000 Oujda Maroc

² Laboratoire de Morphogenèse Végétale Expérimentale, Bat 360 F 91405 Orsay France

³ Faculté des Sciences, BP 4010 Beni M'hamed Meknès Maroc

Ce travail porte sur l'étude des réactions du blé tendre (*Triticum aestivum* L.) aux températures élevées appliquées au cours de l'androgenèse *in vitro*. L'objectif est de contribuer à la mise au point de conditions de pression de sélection *in vitro* dans le cas de lignées résistantes et sensibles aux hautes températures et certains de leurs hybrides F1. Les deux stades androgénétiques utilisés sont le « stade anthère » après un jour de culture *in vitro* et le « stade embryon androgénétique ».

STADE ANTHÈRE

À ce stade, les conditions de pression de sélection sont 35°C/3h, 40°C/3h, 45°C/3h, 45°C/30 mn, 45°C/60 mn et 45°C/90 mn. La condition 45°C/3h s'est avérée létale pour les microspores. Pour les conditions témoins ainsi que 35°C/3h et 40°C/3h, la tendance générale est à la diminution du pourcentage d'embryons en fonction de l'augmentation de la température de sélection *in vitro*.

STADE EMBRYON ANDROGÉNÉTIQUE

L'application des températures de 35°C/3h, 40°C/3h et 45°C/3h à des embryons androgénétiques a permis d'améliorer significativement leur aptitude à la régénération chlorophyllienne et particulièrement dans le cas de la température de 45°C/3h.

C30 : Composition isotopique du carbone et efficacité d'utilisation de l'eau chez le blé *

MOKHTARI F.¹, DELEENS E.², EL JAAFARI S.¹

¹ Laboratoire de Biotechnologies et Amélioration des Plantes, Faculté des Sciences, Université Moulay Ismaïl, BP 4010 Béni M'hamed, 50000-Meknès, MAROC.

² Institut de Biotechnologie des Plantes, URA 1128, groupe « Structure et Métabolisme des Plantes », Bat 630, Université de Paris-Sud, Centre d'Orsay, 91405 Orsay Cedex. FRANCE.

Tout le long de son développement, le blé a des besoins en eau qui varient de 450 à 650 mm selon le climat et la longueur du cycle végétatif. Un déficit hydrique, en particulier durant les périodes de formation des composantes du rendement, peut provoquer des baisses très importantes des rendements en grains et du rapport grain/paille. La caractérisation d'une variété vis-à-vis de sa capacité à produire de la matière pour une quantité d'eau fournie (Efficacité d'Utilisation de l'Eau : EUE) est nécessaire pour améliorer les techniques de production et accroître les rendements.

Le critère EUE est intéressant à déterminer précocement au cours des programmes de sélection afin de gagner un temps précieux dans le choix des génotypes. Aussi, le test basé sur la composition isotopique naturelle du carbone, traduisant l'EUE par une valeur isotopique, commence à être utilisé. La composition isotopique du C fixé par la photosynthèse dépend de la teneur en CO₂ atmosphérique et du fractionnement isotopique du C lors de cette fixation : on va la mesurer soit sur des temps courts (échelle instantanée), soit pendant des périodes de développement plus ou moins longues en fonction de la durée de vie de l'organe (échelle intégrée).

Dans un premier temps, nous développerons brièvement quelques considérations théoriques de base concernant la discrimination ¹²C/¹³C, les échanges gazeux et l'EUE. Dans un deuxième temps, nous présenterons les résultats d'une étude, réalisée chez 4 variétés de blé (*Triticum aestivum* L., *Triticum durum* Desf.), de la relation entre fractionnement isotopique et EUE mesurée également au niveau 1) des échanges gazeux foliaires (échelle instantanée) et 2) par la biomasse totale de la partie aérienne (échelle intégrée). Le but de ce travail étant d'établir et de tenter d'expliquer les variations de compositions isotopiques des grains chez le blé (échelle maximale d'intégration) en relation avec l'alimentation hydrique et l'EUE. Nous discuterons également les possibilités d'utilisation du paramètre EUE en sélection et la nécessité de faire un choix entre la demande en rendement, les possibilités d'alimentation en eau et la réponse des plantes à cette limitation.

* Recherches réalisées dans le cadre de la convention CNR (Maroc) - CNRS (France) entre le Laboratoire de Biotechnologie et Amélioration des Plantes (FSM, Université Moulay Ismaïl - Meknès) et le Groupe Structure et Métabolisme des Plantes (IBP, Orsay) : convention SLVIE 03/96.

C31 : Apport des biotechnologies dans l'amélioration de la tomate pour la résistance au flétrissement bactérien

NSIKA MIKOKO E.

Laboratoire de Phytopathologie, Faculté des Sciences, B.P. Brazzaville, Congo

Dans l'amélioration génétique de la tomate au Congo et particulièrement dans la recherche d'une variété tolérant le flétrissement bactérien provoqué par *Pseudomonas solanacearum*, les méthodes classiques utilisées (hybridation, greffage) ont permis d'obtenir des résultats temporaires.

Avec le succès enregistré dans l'exploitation de la variation somaclonale en vitroculture, il a été envisagé le recours à cette voie en y introduisant une pression de sélection exercée par l'inoculation des bactéries dans les cals avant la régénération des plantules.

Des plantes présentant une nouvelle caractéristique « celle de tolérer la maladie » après inoculation ont été obtenues. Après autofécondation des plantes régénérées, leurs descendances ont été suivies au cours de deux cycles de culture dans des conditions telles que la maladie pouvait se manifester (sol contaminé après une primoculture infestée en plus des inoculations artificielles sur le terrain).

La nouvelle caractéristique (tolérance à la maladie) s'est maintenue alors que la variété de départ était sensible. La voie biotechnologique pourrait être un moyen de lutter efficacement contre certaines maladies bactériennes (ici le flétrissement chez la tomate) : en ce sens que cette fois les caractéristiques nouvellement acquises se maintiennent après deux générations de reproduction sexuée.

C32 : Multiplication *in vitro* du macabo et analyse des peroxydases acides dans la recherche des marqueurs de résistance vis-à-vis de *Pythium myriotylum*

OMOKOLO NDOUMOU D., TSALA NDZOMO G.

Département des Sciences Biologiques, Laboratoire Associé Francophone (LAF 314)

École Normale Supérieure, Université de Yaoundé

I.B.P. 47 Yaoundé (Cameroun) tél./fax: (237) 22 86 74

Des méthodes de culture *in vitro* ont été adaptées pour la multiplication rapide et en grandes quantités du macabo (*Xanthosoma sagittifolium* L. Schott). Les essais portaient sur les trois cultivars disponibles au Cameroun. À savoir : les cultivars blanc et rouge qui sont productifs mais, sensibles à la pourriture racinaire et le cultivar jaune résistant mais, peu productif. Les explants sont constitués d'apex : méristème + deux ébauches foliaires. Les cultures sont établies sur milieu de Murashige et Skoog (MS) contenant 30 g/l de saccharose et 3 g/l d'agar. Après deux semaines, ils sont transférés sur milieu MS additionné de benzylaminopurine à 5 mM. Une prolifération de bourgeons est obtenue après trois semaines. Le nombre de bourgeons par explant augmente avec le nombre de sous-cultures. Les bourgeons néoformés sont alors individualisés et transférés sur milieu MS sans phytohormone. Des plantes entières sont régénérées après trois semaines. L'acclimatation des plants se fait sur substrat terre/vermiculite (1/2) pendant environ un mois. Pour l'étude de la sensibilité à l'infection, ces plants sont alors

infectés avec une suspension de zoospores de *Pythium myriotylum*. Au bout de 12 jours, les résultats ont montré que le cultivar blanc est le plus sensible, suivi du cultivar rouge ; alors que le cultivar jaune est peu affecté. Les activités peroxydasiques dans les racines ont été mesurées dans les fractions solubles et ioniquement liées. Les résultats ont montré qu'au cours de l'infection, les activités enzymatiques augmentent sauf dans la fraction soluble du cultivar blanc où une baisse est mesurée. Les profils électrophorétiques sur gel de polyacrylamide en conditions natives des isopéroxydases acides solubles ont été analysés. Cette analyse est intervenue deux jours après l'infection. Deux bandes d'activité peroxydasique (A1 et A2) sont présentes dans les racines des trois cultivars. Une bande (A3) de mobilité électrophorétique moyenne n'apparaît que lorsque les plantes sont infectées ; elle est commune aux trois cultivars. La bande A4 est spécifique au cultivar jaune ; cependant, elle n'apparaît que dans les conditions d'infection. Les résultats présentés dans cette communication sont une première étape vers 1) l'identification des protéines liées à la tolérance du macabo vis-à-vis de *Pythium myriotylum* et 2) la recherche d'un test précoce d'infection. Ces informations sont déterminantes dans les programmes d'amélioration du macabo. Elles constituent en effet, une étape vers la production de géotypes transformés.

C33 : Évolution des paramètres de stress hydrique du blé suite à la pulvérisation d'huile de lin

PAUL R.¹, BOURHANZOUR A.¹, BENNACEUR M.², EL JAAFARI S.³

¹ Unité de Biologie végétale, Faculté des Sciences agronomiques, 5030 Gembloux, Belgique.

² Département de Physiologie végétale, INRAT, Ariana, Tunisie.

³ Département de Biologie, Université Moulay Ismaïl, Meknès, Maroc

Cette étude a porté sur l'effet de la pulvérisation d'une émulsion de lin sur des plantes de blé soumises au déficit hydrique.

L'effet de l'antitranspirant a été évalué par la mesure, au cours du temps, des paramètres hydrique (potentiels hydrique et osmotique, contenu relatif en eau, hydratation) et teneur en proline.

L'application d'huile de lin s'est traduite par une moindre sensibilité au stress des paramètres hydriques et par une teneur plus faible en proline chez les plantes traitées.

Un meilleur maintien de la croissance a aussi été observé chez ces dernières.

C34 : Infrastructures simplifiées pour la production de variétés d'agrumes indemnes de maladies de type viral par microgreffage d'apex *in vitro*

RIZQI A., NADORI EI B.

Direction des Domaines Agricoles, Unité de Contrôle des Plants Km 7,5 Avenue Imam Malik Dar Es Salam RABAT

Cette communication a pour objet de présenter des équipements simplifiés utilisés à l'UCP pour la réalisation de la régénération des variétés d'agrumes par la technique de microgreffage d'apex associée à la thérapie thermique.

Il s'agit essentiellement de :

- une enceinte de thérapie installée dans une serre à ambiance contrôlée,
- un placard de culture vitré de deux à trois étagères, muni d'équipement permettant de maintenir une température de $28^{\circ}\text{C} \pm 1$ et d'un éclairage de 16 heures par jour,
- un abri entomologique simplifié par la conservation du matériel végétal sain,
- réalisation possible du microgreffage en l'absence d'une hotte à flux laminaire.

C35 : Description des aspects pratiques de production de variétés d'agrumes indemnes de maladies de type viral par microgreffage d'apex *in vitro*

RIZQI A., NADORI EI B., ANEJJAR M., BANI-AAMEUR O.

Direction des Domaines Agricoles, Unité de Contrôle des Plants Km 7,5 Avenue Imam Malik Dar Es Salam RABAT

L'Unité de Contrôle des Plants de la Direction des Domaines Agricoles au Maroc, est en train de réaliser un vaste programme de production de variétés d'agrumes indemnes de maladies de type viral, utilisant la technique de microgreffage d'apex *in vitro* associée à la thérapie. Ce programme porte sur trois types de matériel végétal : les variétés commerciales locales, celles d'intérêt commercial introduites de l'étranger et les variétés mises en collections depuis plusieurs décennies. Les étapes pratiques de production de matériel végétal sain, détaillées dans cet article, concernent les données recueillies au cours de la régénération de quarante variétés d'agrumes, pendant une durée des travaux au laboratoire d'à peine deux mois. Ces étapes sont les suivantes :

- réception de variétés sous forme de quelques baguettes,
- préparation sous serre isolée, de plants destinés à subir le traitement de thérapie,
- thérapie des plants dans une enceinte placée sous serre,
- réalisation du microgreffage d'apex *in vitro* selon deux méthodes,
- entretiens différents des plants obtenus selon la méthode de microgreffage utilisée,
- surgreffage des plants *in vitro* sous serre selon une technique qui permet d'obtenir en 2 à 3 mois des plants suffisamment développés pour entamer le contrôle sanitaire et la multiplication,
- conservation du matériel végétal sain à l'abri des contaminations.

C36 : Amélioration de la vigne par voie biotechnologique : le cas de l'eutypiose

ROUSTAN J.-P., DALMAYRAC S., COLRAT S., DESWARTE C., FALLOT J.

Laboratoire des Industries Alimentaires, UA INRA, École Nationale Supérieure Agronomique, 145 Avenue de Muret, 31076 TOULOUSE cedex, France

L'amélioration de la vigne par hybridation ou par sélection clonale pose de nombreux problèmes. Aussi, les méthodes offertes par les biotechnologies végétales apparaissent prometteuses et très intéressantes pour la vigne. Nous présentons les stratégies mises en œuvre

pour étudier l'eutypiose et développer des moyens de lutte. L'eutypiose est une maladie de dépérissement de la vigne due à un champignon parasite *Eutypa lata*. C'est actuellement la plus grave des maladies de la vigne : elle est présente dans de nombreux vignobles à travers le monde ; elle a un impact économique important, et il n'existe pas de moyens de lutte curatifs. Le champignon parasite se développe dans le tronc des souches et détermine à distance des symptômes caractéristiques sur les parties herbacées par l'intermédiaire d'une substance toxique que nous avons identifiée, l'hydroxy-4 (méthyl-3-butène-3-ynyl-1)-3 benzaldéhyde, appelée eutypine [1,2]. L'eutypine pénètre dans les cellules de vigne par diffusion passive et s'accumule dans le cytoplasme sous forme ionisée par un système de piégeage d'acide [3]. Au sein des membranes biologiques, elle joue le rôle de transporteur mobile de protons, provoquant notamment le découplage de la phosphorylation oxydative des mitochondries, l'inhibition des transporteurs membranaires [4]. Ce mécanisme peut, à lui seul, rendre compte des altérations physiologiques provoquées par l'eutypine. De plus, dans les tissus cultivées *in vitro*, l'eutypine est métabolisé en un dérivé hydroxylé, l'alcool hydroxy-4 (méthyl-3-butène-3-ynyl-1)-3 benzylique, appelé eutypinol. Ce composé ne présente pas de toxicité à l'égard de la vigne. De plus, la capacité de métabolisation de l'eutypine par les variétés sensibles telles que le Cabernet Sauvignon est inférieure à celle du Merlot, variété considérée comme tolérante. Ces résultats permettent aujourd'hui de développer des stratégies pour développer des moyens de lutte contre cette molécule en vue de limiter l'expression des symptômes de la maladie.

Bibliographie

1. MAURO M.C., VAILLANT V., TEY RULH P., MATHIEU Y., FALLOT J. 1988. *Ann. J. Enol. Vitic.* 39 : 200-204.
2. TEY-RULH P., PHILIPPE I., RENAUD J.M., TSOUPRAS G., DE ANGELIS P., FALLOT J., TABACCHI R. 1991. *Phytochem.* 30 : 471-473.
3. DESWARTE C., CANUT H., KLAEBE A., ROUSTAN J.P., FALLOT J. 1996. *J. Plant Physiol.* 149 : 336-342
4. DESWARTE C., EYCHENNE J., DAVY DE VIRVILLE J., ROUSTAN J.P., MOREAU F., FALLOT J. 1996. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 334 : 200-205

C37 : Bases physiologiques d'adaptation des blés oasiens à la sécheresse : ajustement osmotique et photosynthèse

SABOUR I.¹, EL JAAFARI S.¹, MONNEVEUX Ph.²

¹ Laboratoire de Biotechnologies et Amélioration des Plantes, Faculté des Sciences Université Moulay Ismaïl, BP 4010 Béni M'hamed, 50000-Meknès, MAROC.

² GAP, ENSA-INRA, 2 Place Pierre Viala, 34060 Montpellier Cedex1, FRANCE.

Si l'amélioration des systèmes culturaux oasiens constitue un enjeu de première importance, la prospection, l'évaluation et l'exploitation des ressources génétiques de ces zones (et en particulier des ressources céréalières) ne semblent pas moins essentielles dans la mesure où elles sont susceptibles de déboucher sur des progrès génétiques, intéressant non seulement la zone saharienne elle-même, mais également les zones semi-arides voisines, progrès portant à la fois sur le potentiel productif, et sur les caractéristiques d'adaptation au milieu.

Compte tenu des contraintes environnementales sévères auxquelles les blés des oasis ont eu à faire face (alimentation en eau aléatoire, hautes températures, salinité des eaux et du sol), on

peut s'attendre à rencontrer dans le matériel prospecté des caractères intéressants d'adaptation à ces contraintes.

Sur une collection de 15 blés oasiens issus du Tafilalet (Maroc) et du Touat et du Gourara (Algérie), choisis sur base d'une première évaluation morphologique et électrophorétique, nous avons réalisé une étude des bases physiologiques d'adaptation à la sécheresse liées au statut hydrique, à l'ajustement osmotique et à la photosynthèse. La photosynthèse est étudiée au moyen de l'analyse des cinétiques d'induction de la fluorescence chlorophyllienne modulée. Le statut hydrique ainsi que l'aptitude à réaliser un ajustement osmotique actif sont évalués au moyen de la teneur relative en eau (TRE), de la perte relative en eau (PRE), du potentiel osmotique (P) et des relations entre les variations simultanées de ces différents paramètres.

Des comportement types ont été identifiés chez les blés étudiés et des mécanismes intéressants d'adaptation à la sécheresse ont été caractérisés chez des génotypes. L'utilisation de tels génotypes comme géniteurs dans un programme de création variétés destinées aux zones semi-arides voisines (hautes plaines du Maroc et de l'Algérie) est discutée.

C38 : Proposition d'une méthodologie de l'utilisation de la proline comme critère de sélection variétale et son application dans la recherche d'osmo-inducteurs influençant la réactivité du blé tendre au stress hydrique

TAHRI E.H.

Faculté des Sciences d'Oujda Laboratoire d'Amélioration et Production Végétales Rue Sidi Maâfa 60 000
Oujda Maroc Tél : (6) 74 47 46 Fax : (6) 74 47 49

Ce travail a été consacré à l'étude de l'accumulation de proline par des plantules de blé tendre, de 3 semaines, sous l'effet d'un stress hydrique appliqué par arrêt d'arrosage en conditions contrôlées. Six variétés, marocaines, ont été utilisées : Jouda, Kanz, Marchouch, Mouna, Nasma et Saba. Le comportement phénotypique, la réduction des matières fraîches (MF) et sèches (MS)*, le déficit relatif en eau**, et la teneur en proline ont été suivis au cours de l'application du stress. Le comportement phénotypique, de chacune des 6 variétés face au stress, a permis de les classer selon le degré croissant de résistance suivant : Jouda, Nasma, Marchouch, Mouna, Kanz et Saba.

Les teneurs en proline, accumulées au cours du stress par les systèmes foliaires, ne pouvant être corrélées au degré de résistance des différentes variétés, une étude des cinétiques d'accumulation de proline en fonction de l'évolution de la réduction des matières fraîches et sèches, sous l'effet du stress, a été réalisée. Deux types de cinétiques ont été enregistrées : type michaelien et type allostérique. Par analogie aux cinétiques enzymatiques de type michaelien, la détermination, par la relation des doubles inverses de Lineweaver et Burk, des valeurs des paramètres V_m (quantité maximale de proline que peut, théoriquement, accumuler une variété sous l'effet du stress hydrique) et K_m (valeur de la réduction de la MF ou de la MS induisant une accumulation de proline dont la teneur est égale à la moitié de V_m), nous a permis de constater :

- 1- l'absence de corrélation entre les valeurs V_m et K_m enregistrées chez les différentes variétés,
- 2- l'absence de corrélation entre les valeurs V_m et K_m , d'une part, et le degré de résistance au stress des différentes variétés, d'autre part.

3- toutefois, une corrélation, mais négative, a été notée entre le degré de résistance au stress et les valeurs des déficits hydriques relatifs conduisant à une réduction des matières fraîches et sèches induisant une accumulation de proline dont la teneur est égale à V_m . Les écarts entre les valeurs de ces déficits hydriques relatifs, ainsi déterminés, refléteraient le degré de résistance des différentes variétés au stress. La résistance, contrairement à la sensibilité, au stress se traduit par une forte réactivité se manifestant par une accumulation de proline dont la teneur peut atteindre la moitié de V_m et ceci pour de faibles valeurs de déficit hydrique relatif.

La recherche de molécules physiologiques, conduisant à l'augmentation de la réactivité au stress hydrique, et en application de la méthodologie proposée (Détermination de V_m et de K_m), nous a permis de constater, chez 2 variétés, Achtar et Mouna, que le saccharose (100 mM) et les chlorures d'ammonium (20 mM) conduisent, chacun, à l'augmentation de cette réactivité par baisse de la valeur du potentiel osmotique du milieu devant induire une accumulation de proline dont la teneur est égale à la moitié de V_m . La combinaison, de ces 2 molécules osmo-inductrices, améliore, encore plus, la réactivité de ces 2 variétés au stress que lorsqu'elles sont utilisées séparées.

* (MF ou MS des plantules stressées/MF ou MS des plantules témoins) x 100.

** $\frac{(\text{Eau/MS}) \text{ des plantules témoins} - (\text{eau/MS}) \text{ des plantules stressées}}{(\text{Eau/MS}) \text{ des plantules témoins}} \times 100$.

C39 : Amélioration de l'embryogenèse somatique et de la tolérance à la salinité des plantes régénérées

ZAIR I., CHLYAH A., CHLYAH H.

Université Mohammed V, Faculté des sciences, Département de Biologie, Avenue Ibn Battouta, B. 1014, Rabat, Maroc

Les capacités embryogènes ainsi que le pourcentage de régénération des cals initiés à partir d'embryons immatures de blé ont été significativement améliorés par la fragmentation longitudinale de l'embryon zygotique.

Des pressions de sélection ont été ensuite appliquées de deux manières différentes afin d'améliorer la tolérance à la salinité des plantes régénérées. Pour ce faire, les cals sont initiés à partir de moitiés d'embryons immatures, soit en absence de sel puis transférés sur un milieu contenant NaCl, soit directement sur un milieu contenant l'agent sélectif.

Dans le premier cas, les cultures montrent une forte réduction de leur pouvoir de régénération avec l'augmentation de la concentration en NaCl du milieu de culture mais surtout avec l'allongement de la durée de culture.

Dans le second cas, bien que les compétences embryogènes diminuent avec l'augmentation de NaCl, des plantules ont été régénérées à partir de cals initiés sur 10 et 15 g/l chez la plupart des variétés. Le test de fluorescence de la chlorophylle a montré que les plantes régénérées sont significativement plus tolérantes que les plantes mères.

