L'amélioration des plantes pour l'adaptation aux milieux arides. Ed. AUPELF-UREF. John Libbey Eurotext. Paris © 1991, pp. 1-8.

1

# Utilisation de la variation somaclonale et de la sélection in vitro à l'amélioration du riz

## J. BOUHARMONT

Université catholique de Louvain, Laboratoire de cytogénétique, 1348 Louvain-la-Neuve, Belgique

## Résumé

La sélection de lignées cellulaires tolérantes à diverses contraintes de l'environnement et la régénération de plantes à partir de ces lignées sont expérimentées chez le riz. Des résultats positifs ont été obtenus pour la tolérance à la salinité et au froid; ils sont négatifs pour la réaction des cellules à une toxine de *Xanthomonas campestris*. L'étude de la tolérance à l'alumínium soulève plusieurs problèmes techniques. De façon générale, il est souhaitable d'appliquer de fortes pressions de sélection pendant plusieurs mois, afin d'éliminer les cellules normales et de régénérer les plantes à partir de cellules modifiées par variation somaclonale.

## Introduction

La variation somaclonale, induite par une culture plus ou moins longue des cellules en conditions artificielles, est bien connue chez les plantes et particulièrement fréquente chez le riz. Une partie de cette variation est due à des mutations de gènes, qui sont transmises par voie sexuée. Ces mutations ne diffèrent pas essentiellement de celles qui apparaissent spontanément ou sont induites par des traitements mutagènes. Pour autant que la régénération des plantes à partir des cultures soit

#### J. Bouharmont

efficace, la variation somaclonale est une source de diversité complémentaire, parfois utilisable en sélection, en raison du grand nombre de cellules susceptibles d'être atteintes. Son utilisation se justifie surtout lorsque le caractère recherché peut être sélectionné par des pressions appliquées aux cultures cellulaires elles-mêmes.

Les recherches entreprises envisagent des problèmes rencontrés par le développement de la riziculture dans diverses régions d'Afrique et liés à la composition des sols (concentrations élevées en sel ou en aluminium) et aux basses températures (stérilité et longueur du cycle). Elles sont étroitement associées à des programmes de sélection développés dans plusieurs pays. Leur principal objectif est d'éliminer un caractère désavantageux existant dans un génotype qui possède déjà une bonne adaptation aux conditions locales.

## Matériel et méthodes

Les variétés utilisées proviennent de plusieurs pays d'Afrique, où elles ont été introduites ou sélectionnées pour leur adaptation aux conditions locales : Maroc, Sénégal, Burundi. Certains de ces génotypes proviennent de Chine ou de l'IRRI (International Rice Research Institute).

Plusieurs types d'explants ont été testés pour l'obtention de cultures de cellules somatiques, mais la plupart des expériences sont réalisées à partir d'embryons prélevés sur des caryopses mûrs, après désinfection et imbibition. Ces explants ont l'avantage d'être facilement disponibles et d'être aussi performants que les embryons immatures et les fragments de plantules.

Le milieu minéral utilisé est celui de Linsmaier et Skoog [6]. Pour l'induction des cals et leur prolifération, il est généralement complété par des vitamines (myo-inositol et thiamine), par 0,5 mg/l d'acide dichlorophénoxyacétique (2,4-D), 1 mg/l d'acide naphthalène acétique (ANA), 1 mg/l de benzylaminopurine (BAP) et par 3 % de saccharose. Les cultures sont maintenues à l'obscurité. Les cals sont transférés sur un milieu frais tous les mois. Pour la régénération, le même milieu minéral est utilisé à une concentration deux fois moindre et il est complété par l'addition de 0,01 mg/l de 2,4-D, 1 mg/l d'ANA, 1 mg/l de BAP et 2 % de saccharose. Les cals cultivés sur ce milieu à la lumière régénèrent des embryons somatiques de forme plus ou moins régulière qui germent en plantules. Pour l'étude de la toxicité aluminique, le pH du milieu de culture est abaissé à 4 et la composition minérale est adaptée : suppression de KNO<sub>3</sub>, réduction de la concentration en KH<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> et en CaCl<sub>2</sub>, augmentation de la teneur en NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, remplacement du fer chélaté par FeSO<sub>4</sub>; la teneur en agent gélifiant (gelrite) a été augmentée parallèlement à la quantité de sulfate d'aluminium ajoutée au milieu.

L'efficacité de la callogenèse et le taux de régénération diffèrent beaucoup suivant les génotypes. Dans les conditions actuelles, l'utilisation des cultures cellulaires pour l'induction de mutations et surtout pour leur sélection in vitro n'est possible que pour les variétés capables de régénérer un nombre suffisant de plantes à partir de cals maintenus en culture pendant plusieurs mois.

## Résultats

#### La variation somaclonale

Cette variation se manifeste, dès le stade cal, par la diversité des lignées cellulaires issues d'un même embryon, aux points de vue couleur, compacité et aspect superficiel. Au cours de la régénération, beaucoup de cals produisent une proportion plus ou moins élevée de plantules albinos, à côté de plantules normalement chlorophylliennes.

Plusieurs centaines de plantes différenciées à partir de cals maintenus en chambre de culture pendant plus d'un an ont été mises en serre. Des populations dérivées de deux variétés introduites du Sénégal (I Kong Pao et Srimalaysia I) ont été observées aux points de vue morphologie et fertilité. Bien que les conditions de culture peu favorables entraînent des perturbations par rapport à la croissance des plantes au champ, la comparaison avec des plantes normales fait apparaître des différences dans certaines lignées dérivées des cals : allongement ou raccourcissement du cycle végétatif, variabilité du tallage, réduction de l'exsertion paniculaire, diminution de la hauteur du chaume, modification de la longueur et de la forme de la panicule, de la forme et de l'orientation de la feuille paniculaire, augmentation de la tendance à l'égrenage, stérilité plus ou moins importante des épillets.

Plusieurs descendances de plantes régénérées ont été semées à l'Institut des Savanes (Bouaké, Côte-d'Ivoire). Les observations effectuées sur ces descendances ont confirmé l'existence de plusieurs modifications de la panicule, ainsi que la stérilité partielle des épillets, et montré la transmission par graines de ces modifications. D'autres descendances sont actuellement cultivées au Togo pour préciser la nature des variations induites et déterminer leur mode de transmission héréditaire.

## Tolérance au froid

Les basses températures qui prévalent dans les régions rizicoles de montagne de plusieurs pays d'Afrique entraînent un ralentissement de la croissance et provoquent une stérilité plus ou moins forte des épillets. La tolérance du riz à ces conditions dépend certainement de nombreux facteurs qui ne sont pas tous liés à des propriétés cellulaires. La culture de cals à des températures comprises entre 11 et 15 °C montre cependant que des variétés considérées comme tolérantes au froid (Yunnan III, Tatsumi Mochi) supportent des températures plus basses et que leur croissance est moins ralentie que pour un génotype sensible (KH998). Cette corrélation entre les caractères de la plante et des cellules montre la possibilité d'améliorer la tolérance par une sélection de lignées cellulaires capables de proliférer à des températures anormalement basses.

La croissance est temporairement inhibée lorsque les cals sont maintenus à 15 °C, mais elle reprend ensuite, probablement après une adaptation physiologique des cellules à leur nouvel environnement. Les températures plus basses inhibent de façon permanente la croissance de la majorité des cultures. Cependant, des

## J. Bouharmont

massifs cellulaires localisés dans quelques cals prolifèrent après un certain temps. On peut penser que ces lignées proviennent de cellules mutées présentes dans les cals. Après un séjour de six mois à 13 °C, 4 lignées cellulaires de la variété Yunnan III et 5 de Tatsumi Mochi ont ainsi proliféré et régénéré des plantes. Une lignée de la seconde variété a résisté à 11 °C pendant la même durée.

Les plantes régénérées ont été cultivées en serre, où elles ont fructifié. La génération suivante est cultivée au Burundi, dans les marais d'altitude, afin d'être comparée aux témoins.

#### Tolérance à la salinité

La salinité, particulièrement la présence de concentrations élevées en chlorure de sodium dans le sol ou dans l'eau, limite les possibilités de culture du riz sur des surfaces très étendues. Des variétés de riz relativement tolérantes ont été sélectionnées par les voies classiques. Cette tolérance est, au moins en partie, liée à des propriétés cellulaires : en effet, en présence de concentrations en sel (NaCl) croissantes dans le milieu de culture, la prolifération des cals est plus fortement inhibée pour des variétés sensibles (Srimalaysia et I Kong Pao) que pour une tolérante (Nona Bokra). Dans un essai où des cals de la variété I Kong Pao ont été maintenus pendant quatre mois sur un milieu contenant 15 g/l de NaCl (avec transferts mensuels sur le même milieu fraîchement préparé), la croissance est d'abord arrêtée, puis elle reprend de façon générale à partir du troisième mois. On peut penser que cette reprise est surtout due à une adaptation physiologique des cellules. Cependant, sur 180 plantules régénérées et cultivées sur un milieu contenant 15 g/l de NaCl, 20 étaient vivantes après trois semaines, alors que les 150 plantules non sélectionnées étaient mortes. Des descendances de ces plantes sont cultivées en Casamance (Sénégal) pour connaître leur comportement sur des terres alluviales salées.

La concentration létale en NaCl est légèrement différente suivant les variétés. De façon générale, la croissance est définitivement arrêtée pour 17,5 g/l et les cals maintenus sur de tels milieux dégénèrent progressivement. Cependant, quelques cals secondaires à croissance normale sont apparus après un séjour de plusieurs mois sur ces milieux. Après une sélection de six mois, trois lignées cellulaires se sont développées à partir de 50 cals de Nona Bokra et elles ont régénéré des plantes. Pour I Kong Pao, un seul cal sur 55 a survécu. Les caryopses récoltés sur ces plantes ont donné une descendance en serre. La génération suivante sera soumise aux tests pour mettre en évidence une éventuelle tolérance à la salinité dans les lignées.

#### Tolérance à l'aluminium

Comme la salinité, l'excès d'aluminium est très fréquent dans les sols tropicaux, où il constitue un facteur limitant pour la culture des céréales, et plus particulièrement du riz. La nature de la toxicité aluminique est mal connue et difficile à étudier. La libération des ions toxiques n'est possible qu'à des pH très bas et l'acidité elle-même affecte les plantes directement ou indirectement, par les

carences qui se manifestent pour d'autres éléments (calcium, phosphore). En raison de ces problèmes, il est également difficile d'élucider les mécanismes responsables de la tolérance à l'aluminium, qui est connue chez certaines plantes. Des propriétés cellulaires interviennent dans cette tolérance et leur sélection a permis d'obtenir des plantes améliorées pour ce caractère chez quelques espèces.

Les milieux sélectifs utilisés contiennent du sulfate d'aluminium (Al<sub>2</sub> (SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>. 18H<sub>2</sub>O) à des concentrations comprises entre 83 et 670 mg/l (0,25-2mM). L'abaissement du pH seul affecte modérément la croissance des cals de riz, mais les autres modifications du milieu nécessaires à l'expression de la toxicité aluminique (diminution des teneurs en calcium et phosphore) ont un effet plus marqué.

Bien que la présence d'aluminium réduise la croissance des cals et la fréquence de régénération, des plantules se sont différenciées, après passage sur le milieu de culture approprié, à la suite d'un séjour de cinq mois sur la plupart des milieux sélectifs. Pour la concentration la plus forte en aluminium (2 mM), 30 % des cals ont donné des plantules. Les caractéristiques des plantes régénérées devront être étudiées.

## Résistance à une toxine bactérienne

La bactériose induite par Xanthomonas campestris pv. oryzae réduit notablement les rendements du riz, surtout à basse altitude. Les différentes souches de cette bactérie qui infectent des espèces très diverses produisent une même toxine, l'acide 3-méthyl-thiopropionique (3-MTP). Cette substance a été synthétisée en laboratoire; elle induit les symptômes de la bactériose sur les feuilles et son addition au milieu de culture est létale pour les embryons à partir d'une concentration de 4 mM. Cependant, des cals de riz ne sont pas influencés par des concentrations qui atteignent 8 mM. Il ne semble donc pas que la présence du 3-MTP agisse au niveau des cellules et que son incorporation au milieu de culture puisse être utile pour la sélection de la résistance à la bactérie. Des substances plus spécifiques conviendraient sans doute mieux.

## Discussion et conclusions

Les expériences ont confirmé la grande diversité des génotypes de riz quant à leur comportement *in vitro*: pour certaines variétés, l'induction de la callogenèse est pratiquement nulle dans les conditions qui ont été expérimentées. En outre, la régénération de plantes à partir des cals en culture est parfois insuffisante pour permettre une application à l'amélioration. Dans les conditions actuelles, la sélection *in vitro* ne peut être envisagée que pour les variétés où la callogenèse est suffisante et où les cals régénèrent une quantité importante de plantes après une culture prolongée.

La variation somaclonale se manifeste par des différences dans l'aspect et la croissance des cals issus d'un même embryon, par des différences morphologiques et physiologiques parmi les plantes régénérées et leur descendance, ainsi que par la réponse différente des lignées cellulaires soumises à des pressions sélectives.

#### J. Bouharmont

Les avis concernant l'utilité des mutations induites par la culture in vitro ne sont pas unanimes. Lorsqu'elles ne sont pas accompagnées d'altérations chromosomiques graves et de phénomènes de stérilité, ces mutations peuvent représenter, comme celles qui proviennent de traitements mutagènes, une source de diversité disponible pour la sélection. Zheng et al. [13] signalent que plusieurs lignées utiles pour la sélection ont été isolées en Chine de cette façon, montrant l'utilité potentielle des cultures de cellules somatiques pour l'amélioration du riz. Quel que soit le mécanisme à la base de leur induction, les mutations présentes dans les cellules en culture peuvent être exploitées de deux façons différentes.

Lorsque le nombre de plantules régénérées est élevé, l'observation des plantes ou de leurs descendances doit conduire à l'isolement de lignées améliorées pour l'un ou l'autre caractère. Plusieurs variétés introduites au Burundi sont assez bien adaptées à l'écologie des marais d'altitude et relativement résistantes aux maladies, mais la hauteur du chaume représente un défaut majeur : l'induction de mutants plus courts constituerait un avantage important. La réduction de la phase végétative et la résistance à plusieurs maladies représentent aussi des objectifs potentiels. Il s'agit souvent de caractères monogéniques apparaissant par mutation. L'épiaison précoce et le raccourcissement du chaume sont deux mutations monofactorielles observées par Fukui [2] parmi les plantes régénérées à partir d'un seul cas, à côté de l'albinisme et de la stérilité. Sun et al. [9] ont également observé une nette tendance à la réduction de la taille chez les plantes régénérées, et un mutant nain a été isolé en seconde génération; ce caractère est contrôlé par un seul gène récessif.

Les mutations induites dans les cellules en culture par la variation somaclonale et par des traitements mutagènes éventuels sont surtout intéressantes lorsqu'elles peuvent être soumises à des pressions sélectives qui augmentent la fréquence des cellules modifiées. Cette sélection ne peut se concevoir que pour des caractères agronomiques s'exprimant aussi au niveau cellulaire. En 1982, Swaminathan considérait l'induction et la sélection de mutants au niveau cellulaire comme l'application la plus utile des techniques in vitro chez le riz; parmi les objectifs, il citait la tolérance aux éléments toxiques, la résistance aux maladies, la modification des teneurs en acides aminés [10].

Bien que de nombreuses expériences de sélection *in vitro* soient rapportées dans la littérature, les résultats positifs sont beaucoup moins fréquents et les applications pratiques pour l'amélioration sont rares. Beaucoup de ces expériences portent sur des quantités limitées de matériel et ne se sont pas prolongées assez longtemps. Deux autres facteurs peuvent expliquer l'échec fréquent de la sélection *in vitro*: ce sont l'adaptation physiologique temporaire et la différenciation de chimères.

Beaucoup de chercheurs appliquent des pressions sélectives faibles ou augmentent progressivement leur intensité, permettant ainsi une adaptation des cellules : cette adaptation se perd au cours d'un passage ultérieur sur milieu non sélectif et ne se retrouve donc pas dans les plantes régénérées. Pour l'éviter, il semble préférable de déterminer un seuil de létalité et d'appliquer brutalement une pression sublétale, inhibant totalement la prolifération des cellules normales.

D'autre part, plusieurs publications rapportent la régénération de plantules modifiées, puis la disparition du caractère sélectionné dans les plantes adultes ou dans leur descendance [7]. Une explication possible de ces échecs est la nature chimérique des plantules et l'élimination des tissus modifiés lorsque la pression de sélection disparaît. Un moyen de réduire la fréquence des chimères peut être

l'allongement de la période de sélection. Dans nos expériences, les cals secondaires tolérants au froid ou au sel sont apparus après trois ou quatre mois de forte sélection: il paraît souhaitable de maintenir pendant six mois une pression sévère, afin d'éviter, autant que possible, la présence de cellules non mutées dans les cals qui sont transférés sur le milieu de régénération. Dykes et Nabors [1] préconisent des conditions sélectives qui réduisent la croissance des cellules à 1-10 % de la normale; selon eux, la durée de la sélection (sel, aluminium, sécheresse) est également importante, une lignée cellulaire normale pouvant supporter une forte concentration en sel pendant un temps limité.

Les concentrations en NaCl et autres sels empêchent la culture du riz sur des surfaces très étendues. Cela explique les nombreuses recherches concernant la tolérance à la salinité entreprises dans beaucoup de pays, particulièrement en Inde [4]. Souvent, on a isolé des lignées cellulaires modifiées mais il n'a pas été possible de régénérer des plantes tolérantes [12]. La sélection est généralement appliquée à des cellules dérivées de tissus somatiques, éventuellement après un traitement mutagène [11]. La culture d'anthères et l'application de pressions de sélection aux cellules haploïdes sont parfois proposées : en principe, elles facilitent la sélection des mutations récessives et l'obtention des homozygotes.

L'acide 3-méthyl-thiopropionique ne paraît pas avoir d'action sélective sur les cals de riz. Des extraits contenant des substances plus spécifiques seraient peut-être plus efficaces pour la sélection de cellules et de plantes résistantes à Xanthomonas. Cette sélection a effectivement été tentée chez le pêcher avec des filtrats de culture de Xanthomonas campestris pv. pruni: elle a permis de régénérer deux plantes plus résistantes à la bactérie que le clone originel [3]. Chez le riz, Ling et al. [5] ont montré la possibilité d'obtenir des plantes résistantes à Helminthosporium oryzae après culture de cellules somatiques en présence de toxine brute du parasite.

La tolérance aux basses températures dépend de plusieurs facteurs et la caractérisation des plantes est plus difficile que pour la tolérance aux ions toxiques. Cependant, quelques exemples d'amélioration de plantes ornementales après culture des cellules à basse température montrent que les cultures *in vitro* sont applicables pour ce caractère [8]. La modification induite et sélectionnée semble être une floraison plus précoce.

## Références

- 1. Dykes TA, Nabors MW. (1986). Tissue culture in rice and its application in selecting for stress tolerance. *Rice Genetics*; 799-810.
- 2. Fukui K. (1983). Sequential occurrence of mutations in a growing rice callus. *Theor Appl Genet*; 65: 225-30.
- 3. Hammerschlag FA. (1988). Selection of peach cells for insensitivity to culture filtrates of *Xanthomonas campestris* pv. pruni and regeneration of resistant plants. Theor Appl Genet; 76: 865-9.
- 4. Kavi Kishor PB. (1988). Effect of salt stress on callus cultures of *Oryza sativa L. J Exp Bot*; 39: 235-240.
- Ling DH, Vidhyaseharan P, Borromeo ES, Zapata FJ, Mew TW. (1985). In vitro screening of rice germplasm for resistance to brown spot disease using phytotoxin. Theor Appl Genet; 71: 133-5.

#### J. Bouharmont

- 6. Linsmaier EM, Skoog F. (1965). Organic growth factor requirements of tobacco tissue culture. *Physiol Plant*; 18: 100-27.
- 7. Meredith CP. (1984). Selecting better crops from cultured cells. in: ed. J.P. Gustafson. Gene manipulation in plant improvement, pp. 503-28.
- 8. Preil W, Walther F, Engelhardt M. (1982). Breeding of low temperature tolerant types in *Poinsettia* and *Chrysanthenum* by means of mutation induction in *in vitro* culture. *Abst XXI Int Hort Cong* vol 2, 1771.
- 9. Sun ZX, Zhao CZ, Zheng KL, Qi XF, Fu YP. (1983). Somaclonal genetics of rice Oryza sativa L. Theor Appl Genet; 67: 67-73.
- 10. Swamimathan MS. (1982). Biotechnology research and Third World agriculture. Science; 218: 967-74.
- 11. Woo SC, Ko SW, Wong CK. (1985). In vitro improvement of salt tolerance in a rice cultivar. Bot Bull Acad Sin; 26: 97-104.
- 12. Yano SI, Ogawa M, Yamada Y. (1982). Plant formation from selected rice cells resistant to salts. *Proc 5th Int Cong Plant Tissue and Cell Culture*, pp. 495-496.
- 13. Zheng KL, Zhou ZM, Wang GL, Luo YK, Xiong ZM. (1989). Somatic cell culture of rice cultivars with different grain types: somaclonal variation in some grain and quality characters. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*; 18: 201-8.

L'amélioration des plantes pour l'adaptation aux milieux arides. Ed. AUPELF-UREF. John Libbey Eurotext. Paris © 1991, pp. 9-23.

2

## Quantification des désordres photosynthétiques chez la plante stressée : aspects conceptuels et méthodologiques

M. ERNEZ, R. LANNOYE

Laboratoire de physiologie végétale, Université libre de Bruxelles, 28, avenue Paul Heger, CP169, 1050 Bruxelles, Belgique

## Résumé

L'altération de l'état physiologique des plantes, causée par des conditions défavorables de l'environnement, se reflète rapidement au niveau des signaux lumineux et thermiques émis par les feuilles. Des mesures in vivo par des techniques biophysiques, basées sur la fluorescence de la chlorophylle et la photoacoustique ont été effectuées sur les feuilles de blé dur (Triticum durum Desf.), d'orge (Hordeum vulgare L.) et de triticale (Triticum durum × Secale cereale L.) afin d'estimer leur résistance relative vis-à-vis des stress (hydrique, thermique et lumineux) de l'environnement. Nos résultats montrent que des paramètres simples et rapides comme la fluorescence de la chlorophylle et la photoacoustique peuvent être utilisés dans les tests de criblage.

## Introduction

Les feuilles végétales contiennent divers pigments (chlorophylles et caroténoïdes) qui ont la propriété d'absorber l'énergie lumineuse. L'excitation de ces pigments

suite à l'absorption d'un photon est suivie d'une déexcitation qui peut prendre quatre formes différentes [4]:

- (a) transfert de l'énergie absorbée vers une molécule-pigment voisine à l'intérieur des antennes du photosystème (PS) I et II. Cette énergie pourra finalement être transférée aux chlorophylles des centres réactionnels;
  - (b) ré-émission d'un photon (fluorescence et phosphorescence);
  - (c) déexcitation non radiative (émission de chaleur);
- (d) perte d'un électron de la molécule piège des centres réactionnels vers la chaîne de transfert d'électrons (activité photochimique).

Ces différentes voies de déexcitation dépendent les unes des autres. Si un des processus de déexcitation est rendu impossible, la dissipation d'énergie via les autres processus augmente. Les différentes voies de déexcitation sont schématisées à la figure 1.

Certains de ces signaux, tels la fluorescence de la chlorophylle ou l'émission de chaleur, sont facilement mesurables *in vivo* par différentes techniques biophysiques (fluorimétrie, photoacoustique, etc.). Il est montré que les signaux lumineux, thermiques ou acoustiques mesurés au moyen de ces techniques renseignent directement sur les activités photochimiques des chloroplastes *in vivo* [3, 4, 5, 7,

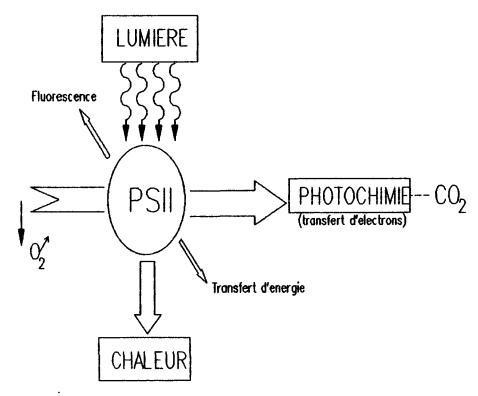


Figure 1. Schémas des processus radiatifs et non radiatifs de déexcitation des pigments dans une feuille.

15] et peuvent servir de marqueurs univoques de l'état fonctionnel des membranes chloroplastiques.

Cette caractéristique importante de ces signaux biophysiques peut être utilisée en pratique, comme outil de diagnostic, pour détecter rapidement et de manière non destructive l'apparition de conditions de stress physico-chimiques dans la plante.

Une des applications les plus intéressantes de la mesure des signaux lumineux et photoacoustiques des feuilles est la possibilité d'estimer facilement la résistance relative de variétés ou des génotypes de plantes cultivées vis-à-vis des stress de l'environnement. Quelques tests rapides et efficaces de criblage sont présentés dans cette étude.

## Matériel et méthodes

## Matériel végétal

Nous avons utilisé dans cette étude 31 variétés et génotypes de blé dur de différentes origines. Nous avons inclus dans ce test 11 variétés d'orge et 3 variétés de triticale (issues de croisement entre blé dur et seigle). La liste de toutes les variétés et génotypes est donnée au Tableau I.

Les semences nous ont été fournies par le Laboratoire d'amélioration des plantes de l'Ecole nationale supérieure agronomique de Montpellier.

Tableau I. Variétés et génotypes de blé dur, orge et triticale utilisés dans les tests de résistance au stress hydrique et thermique. Leur origine est indiquée ().

Blé dur	Orge	Triticale
Maghrebi (Tunisie)	C. Mariout (USA)	Claircal (France)
Cando (USA)	Giza 119 (Egypte)	33-1-4 (France)
1658 (Maroc)	905 (Maroc)	23-4-3 (Mexique)
Waha (Mexique)	071 (Maroc)	` '
Mohamed B.B. (Algérie)	Tichdrett (Álgérie)	
Hedba 3 (Algérie)	Acsad 60 (Syrie)	
Oued Zenati (Algérie)	Faiz (Syrie)	
Bidi 17 (Algérie)	Barberousse (France)	
Jori (Espagne)	Rihane (Syrie)	
Inrat 69 (Tunisie)	126 SCB (Syrie)	
Tassili (Algérie)	128 SDB (Syrie)	
Polonicum (Algérie)	` • /	
Acsad 65 (Syrie)		
Agathe (France)		
Poinville (France)		
Cocorit C71 (Mexique)		
Clairdoc (France)		
Tomclair (France)		
Durtal (France)		
Durelle (France)		

Les plantules ont été cultivées en serre dans des vases cylindriques (diamètre, 30 cm) remplis de terreau et arrosés journellement. Les échantillons ont été prélevés sur des plantules ayant atteint le stade « 4 feuilles » après 3-4 semaines de croissance.

#### Matériels et méthodes de mesure

### Fluorescence modulée

La composante photochimique de l'extinction de la fluorescence de la chlorophylle  $(q_Q)$  a été déterminée au moyen d'un nouveau fluorimètre imaginé par Schreiber et al. [13] et construit par la firme Waltz (Effeltrich, RFA; modèle PAM 101-102-103). La fluorescence modulée a été induite par de courtes impulsions de lumière rouge  $(1 \, \mu s)$  appliquées à une fréquence de 1,6 kHz. Cette lumière d'excitation, produite par une diode émettrice de lumière (650 nm), a eu une très faible intensité (valeur intégrée = 0,5  $\mu$ mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), de telle sorte qu'aucun phénomène d'induction n'a pu être induit. Elle a donc permis de mesurer le niveau initial de la fluorescence Fo (un exemple de courbe de fluorescence mesuré au moyen de ce fluorimètre est présenté sur la figure 3). L'induction de la fluorescence chlorophyllienne a été induite par une seconde lumière, blanche, non modulée et de plus forte intensité (1 000  $\mu$ mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) produite par une lampe halogène de 150 W (Osram Xenoplot HLX). L'induction a été mesurée avec une fréquence de modulation de 110 kHz, de manière à réduire fortement le bruit de fond parasite et à augmenter sensiblement le temps de réponse de l'appareil.

Le niveau maximum de la fluorescence de la chlorophylle a été déterminé par l'adjonction d'un éclair (1 s) de lumière blanche de très forte intensité, saturante pour le transfert d'électrons (8 000  $\mu$ mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>). La méthode de calcul utilisée pour estimer la composante photochimique de l'extinction de la fluorescence, à partir du niveau initial ( $F_o$ ), stationnaire ( $F_v$ ) et maximum ( $F_{max}$ ) de la fluorescence, est la suivante :

$$q_Q = \frac{(F_{max} - F_v)}{(F_{max} - F_o)}$$

#### **Photoacoustique**

L'effet photoacoustique est essentiellement une conversion d'une lumière modulée en intensité en une émission périodique d'énergie thermique qui produit une onde de pression (c'est-à-dire un son) détectable par un microphone. Le matériel végétal (un disque foliaire de 1 cm de diamètre) est éclairé par une lumière modulée à une fréquence généralement comprise entre 10 et 1 000 Hz. Une partie de l'énergie absorbée par les chloroplastes de la feuille est ré-émise sous forme de chaleur (qui est modulée à la même fréquence que celle de la lumière d'excitation). Une mince couche d'air (dans les espaces extracellulaires) près de la paroi cellulaire est ainsi chauffée périodiquement et soumise à un processus d'expansion/contraction périodique. Cela crée une onde de pression (un son) qui peut se propager dans la feuille. Cette onde acoustique est détectée par un petit microphone sensible. Le signal acoustique brut est alors analysé par un amplificateur à détection synchrone (lock-in amplifier) qui mesure son amplitude et sa phase (par rapport à la

modulation de la lumière d'excitation). En fait, le signal photoacoustique peut être considéré comme un vecteur et on peut mesurer sa projection sur les axes de référence (les deux composantes ainsi obtenues sont appelées quadrature et *in-phase*).

Un exemple typique de signal photoacoustique (quadrature et *in-phase*) produit par une feuille éclairée au moyen d'une lumière rouge modulée à 14 Hz est montré sur la figure 2. Le signal photoacoustique produit par un échantillon de feuille est compliqué par le fait qu'il est photochimiquement actif. Une partie de la lumière absorbée est stockée sous forme d'énergie chimique. De plus, un organisme photosynthétique est caractérisé par des échanges gazeux liés à l'activité photosynthétique : fixation de CO<sub>2</sub> et dégagement d'O<sub>2</sub>. Dans le cas où la lumière est modulée, la production d'O<sub>2</sub> est également modulée. Il en résulte la production d'une onde acoustique qui, au même titre que le signal photothermique, est détectée par le microphone dans la cellule photoacoustique (Bults *et al.*, 1982).

L'éclairement de la feuille par une seconde lumière non modulée et de très forte intensité (saturante pour la photosynthèse), en plus de la lumière modulée, réduit le rendement quantique de la production d'oxygène à zéro et supprime ainsi la composante de la production d'oxygène modulée du signal photoacoustique (fig. 2). Le signal résultant est donc purement photothermique. On effectue alors une rotation des axes de référence (en changeant la phase dans l'amplificateur à mesure de phase) de manière à ce que le signal thermique apparaisse uniquement

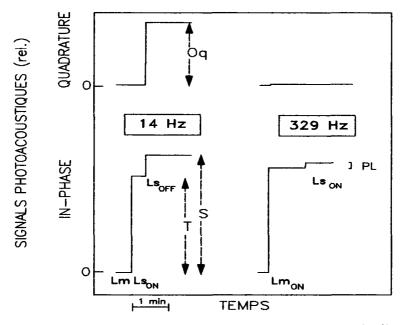


Figure 2. Signal photoacoustique produit par une feuille éclairée avec une lumière modulée à : (a) faible fréquence (14 Hz) (I signal *in-phase*, Q la quadrature) et (b) haute fréquence (329 Hz) (seul le signal *in-phase* est montré, la quadrature étant nulle). Lm : lumière modulée; Ls : lumière saturante; PL : stockage d'énergie photochimique.

dans la composante *in-phase*, la quadrature étant nulle. La suppression de la lumière saturante (fig. 2) fait réapparaître la production d'oxygène modulée qui apparaît dans les deux composantes.

En quadrature, le signal est un signal oxygène pur  $(O_q)$  alors que l'autre composante est un mélange signal photothermique (T) + signal oxygène  $(O_i = S-T)$ . L'amplitude totale du vecteur oxygène  $(A_{ox})$  peut être calculée par la formule :

$$A_{ox} = \sqrt{(O_a^2 + O_i^2)}$$

Toutefois, il faut tenir compte des « pertes photochimiques » : le signal photothermique obtenu en présence de la lumière saturante (T) est en réalité le signal photothermique maximum obtenu quand l'efficience photochimique est nulle. Les pertes photochimiques peuvent être évaluées en mesurant le signal photothermique à haute fréquence (Bults et al., 1982). En effet, aux fréquences de modulation supérieures à environ 300-400 Hz (suivant les espèces végétales), la production d'oxygène photosynthétique modulée disparait (la fréquence est trop élevée pour avoir une production d'oxygène modulée) et le signal photoacoustique est purement thermique. Un exemple de signal photoacoustique produit par une feuille illuminée par une lumière modulée à 329 Hz est montrée sur la figure 2. La comparaison des signaux photothermiques obtenus en présence et en absence de la lumière non modulée saturante permet d'estimer la fraction d'énergie lumineuse stockée sous forme d'énergie chimique.

Connaissant la valeur des pertes photochimiques (P<sub>L</sub>), O<sub>1</sub> peut être calculé rigoureusement de la manière suivante :

$$O_{\scriptscriptstyle I} = S - T(1 - P_{\scriptscriptstyle L})$$

Etant donné que l'amplitude du signal photothermique  $(A_{pt} = T)$  est directement proportionnelle à l'énergie lumineuse absorbée par la feuille, le rapport  $A_{ox}/A_{pt}$  est une mesure relative du rendement quantique de la production d'oxygène photosynthétique *in vivo* (Poulet *et al.*, 1983).

## Tests et méthodes

## Stress hydrique

Des segments rectangulaires (de 2 cm de long) ont été prélevés sur la troisième feuille bien développée. Ces échantillons ont ensuite été soumis, avant les mesures de fluorescence, à un traitement identique à celui utilisé par Havaux et al. (1986a): les échantillons ont été déshydratés rapidement en les plaçant à l'obscurité pendant plusieurs heures (généralement 4 h), les témoins étant conservés sur du papier filtre imbibé d'eau distillée. La température et l'humidité relative de l'air pendant le traitement ont été respectivement de 26 °C et de 55 %. Après ce traitement, le potentiel hydrique des échantillons déshydratés et des témoins a été mesuré en utilisant une presse à membrane. Ces mesures du potentiel hydrique foliaire ont montré que les cinétiques de déshydratation ont été, à peu de chose près, identiques dans toutes les variétés, à l'exception toutefois de deux variétés (Tomclair et Poinville) qui ont atteint des potentiels notablement plus négatifs pour un même temps de déshydratation (-27 bars au lieu de -17 bars après 4 h de déshydratation).

## Stress thermique

Des feuilles (troisième feuille) ont été prélevées sur des plantules au stade « 4-5 feuilles », cultivées en serre dans des pots cylindriques d'un diamètre de 20 cm et d'une hauteur de 40 cm. Ces feuilles, coincées dans un support métallique, sont chauffées à une vitesse de 1 °C min<sup>-1</sup> et le signal de fluorescence initiale (F<sub>o</sub>) est mesuré en même temps.

#### Stress lumineux

Quatre variétés de blé dur (Hedba 3, Bidi 17, Agathé et Durelle) ont été cultivées dans une chambre thermostatique où sont contrôlées: la température (25 °C le jour et 18 °C la nuit), l'humidité relative (70 %) et la lumière (300 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>). Au stade « 4-5 feuilles », des plantes (5 plantes par traitement et par variété) ont été exposées à 8 intensités lumineuses croissantes (0, 500, 1000, 1500, 2000, 3000, 4000, 5000 et 6000 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) pendant vingt minutes. D'autres plantes (5 plantes par traitement et par variété) ont été traitées à 4 000 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> pendant 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 et 40 minutes.

Les mesures photoacoustiques du signal photothermique  $(A_{pt})$  et du signal d'oxygène  $(A_{ox})$  ont été effectuées juste après le traitement et après 120 minutes de réadaptation des plantes à l'obscurité.

## Résultats et discussions

## Résistance au stress hydrique

La figure 3 montre l'effet d'un stress hydrique rapide obtenu par déshydratation rapide pendant 4 h à 25 °C sur le niveau initial  $(F_o)$ , variable  $(F_v)$  et maximal  $(F_m)$  de la fluorescence chlorophyllienne de feuilles de blé dur (variété ACSAD 65). Le potentiel hydrique atteint après traitement est de -18 bars. On remarque qu'à ce potentiel hydrique, seul le niveau de la fluorescence  $F_m$  est fortement réduit. Ce qui se traduit par une forte inhibition de la composante photochimique  $(q_Q)$  de la fluorescence chlorophyllienne.

Le classement ainsi obtenu pour toutes les variétés et génotypes est illustré sur le tableau II. Pour le blé dur, ce classement est compatible avec les résultats (Tableau IV) déjà obtenus par d'autres techniques (rendement en champs sous stress hydrique, dosage de la proline, etc.) réalisées en champs à la Station d'amélioration des plantes de l'Ecole nationale supérieure agronomique de Montpellier [9].

Pour l'orge, cette technique de fluorescence nous a permis de faire une discrimination entre les variétés et d'établir un classement confirmé par d'autres techniques en champs (communication personnelle du Pr Grignac).

Cette étude, montre une grande variabilité génétique vis-à-vis du stress hydrique chez les céréales en général.

La rapidité et la sensibilité de la méthode de la fluorescence chlorophyllienne *in vivo* permet la comparaison d'un grand nombre de génotypes en un temps très court.

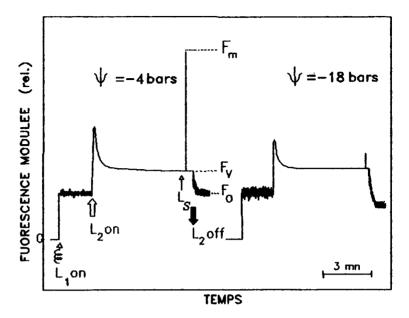


Figure 3. Effet d'un stress hydrique rapide (dessiccation à l'air pendant 4 h) sur le niveau initial (F<sub>o</sub>), variable (F<sub>c</sub>) et maximum (F<sub>m</sub>) de la fluorescence chlorophyllienne in vivo mesurée sur des feuilles de blé dur (var. ACSAD 65). F<sub>o</sub> est obtenu par une faible intensité de lumière modulée L<sub>1</sub>. F<sub>c</sub> est induit par une seconde lumière L<sub>2</sub> non modulée d'une forte intensité (1 000 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) et à laquelle on additionne des flashs de lumière saturante (L<sub>s</sub>) de très forte intensité (9 000 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) qui induisent l'augmentation de la fluorescence jusqu'au niveau maximum F<sub>v</sub>. Le potentiel hydrique des feuilles témoins a été de -4 bars et des feuilles déshydratées de -18 bars.

Les résultats sont exprimés en % du témoin  $\left(\frac{q_{0siressé}}{q_{0iémoin}} \times 100\right)$ .

## Résistance au stress thermique

Dans le cas du stress thermique, le niveau  $F_o$  (ou niveau initial de la fluorescence) serait la principale composante affectée dans ce type de contrainte [11]. Cet effet serait liée à la dissociation qui s'opère sous l'effet des hautes températures entre le centre réactionnel du PSII et l'antenne collectrice d'énergie lumineuse : LHC (Light Harvesting Complex). La température à laquelle on observe un début d'augmentation du niveau  $F_o$  (température critique  $T_c$ ) a été directement corrélée à la résistance au stress thermique, mesurée par une autre technique très contraignante basée sur la température de 50 % de nécrose après un traitement des feuilles à différentes températures [1]. La détermination de cette température critique à partir de la courbe expérimentale ( $F_o$  en fonction de la température) nous est apparue assez délicate, notamment dans le cas de certaines variétés où, à partir d'une certaine température (inférieure à  $T_c$ ). On observe une augmentation du  $F_o$ 

**Tableau II.** Effet d'un stress hydrique rapide obtenu par déshydratation de disque foliaire pendant 4 h sur la composante photochimique  $(q_0)$  de l'extinction de la fluorescence chlorophyllienne à l'état stationnaire pour les 31 variétés et génotypes de blé dur, orge et triticale  $(q_0)$  est exprimé en % du témoin.

Blé dur	q <sub>Q</sub> (%)	Orge	q <sub>Q</sub> (%)	Triticale	q <sub>Q</sub> (%)
Hedba 3	96	Tichdrett	98	33-1-4	78
Waha	95	Acsad 60	89	23-4-3	71
Bidi 17	94	Faiz	88	Claircal	70
Mohamed B.B.	92	Giza 119	84		
Oued Zenati	92	California	82		
Tassili	88	M.	81		
Polonicum	81	071	77		
Maghrebi	69	905	69		
Cando	68	Barberousse	63		
1658	66	Rihane	57		
Acsad 65	62	126	<b>4</b> 7		
Clairdoc	55	128			
Tomclair	49				
Cocorit C71	48				
Poinville	40				
Durtal	39				
Durelle	39				

due uniquement à une « fluorescence anaérobique » qui peut être éliminée par un apport de lumière dans le rouge lointain. C'est la raison pour laquelle nous avons utilisé dans cette étude la température du pic  $(T_p)$  qui est directement corrélée à  $T_c$  plus simple à déterminer (fig. 4).

La figure 4 donne un exemple de courbe  $F_o$  en fonction de la température pour deux variétés de blé dur (Tomclair et Mohamed Ben Bachir). Les feuilles ont été chauffées graduellement (1 °C par minute) et la fluorescence  $F_o$  a été mesurée simultanément. On constate sur cette figure qu'à partir de la température critique  $T_c$ , le niveau de la fluorescence  $F_o$  augmente très rapidement jusqu'à un pic : température du pic  $(T_p)$ . Les deux températures  $T_c$  et  $T_p$  sont significativement plus faibles chez Tomclair que chez Mohamed Ben Bachir.

Par ailleurs, beaucoup de travaux ont démontré que  $T_c$  ou  $T_p$  sont des indicateurs de la thermostabilité des chloroplastes [1, 8, 11], et peuvent donc être utilisés pour estimer la tolérance des plantes au stress thermique. La figure 4 indiquerait donc que Tomclair est une variété beaucoup plus sensible au stress thermique que Mohamed Ben Bachir. A partir de cette constatation, nous avons testé les variétés et génotypes de blé dur, orge et triticale, en utilisant  $T_p$  comme indicateur de la tolérance au stress thermique.

Les résultats de ce test sont illustrés au Tableau III. Ces résultats indiquent une grande variation génétique pour la tolérance au stress thermique chez les trois céréales examinées dans cette étude, avec T<sub>p</sub> variant de 54 °C pour la variété la plus sensible (Durelle) jusqu'à 62 °C pour la variété la plus tolérante (Cando) chez le blé dur.

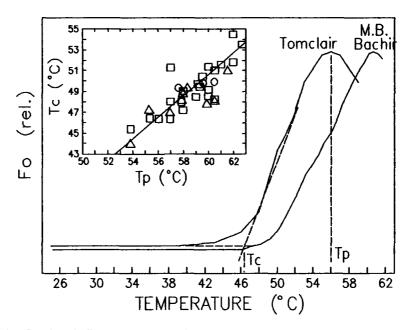


Figure 4. Courbes de fluorescence F<sub>o</sub> en fonction de la température mesurées sur les feuilles de deux variétés de blé dur (Tomclair et Mohamed Ben Bachir). Les feuilles ont été chauffées graduellement de 1 °C min-1 et le niveau F<sub>o</sub> a été mesuré simultanément. T<sub>p</sub> est la température du pic de fluorescence et T<sub>c</sub> est la température critique correspondant au début de montée de la fluorescence F<sub>o</sub>. Insert: corrélation entre T<sub>p</sub> et T<sub>c</sub> mesurée pour un grand nombre de variétés et de génotypes de blé dur, orge et triticale.

Ces résultats montrent la rapidité et la facilité de cette technique pour évaluer la résistance au stress thermique chez les céréales.

#### Résistance au stress lumineux

Les signaux photoacoustiques ( $A_{pt}$  = signal thermique et  $A_{ox}$  = signal d'oxygène) ont été mesurés sur des feuilles de blé dur (variété Hedba 3 et Durelle) éclairées avec une lumière modulée à une fréquence de 14 Hz.

La figure 5.a montre les effets d'un traitement lumineux, pendant 20 min, des deux variétés avec une lumière blanche d'une intensité croissante de 0 à 6 000  $\mu$ mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>.

A partir d'un traitement à 2000 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, on constate une augmentation du signal thermique par rapport aux plantes non traitées pour les deux variétés. Cette augmentation du signal thermique serait une protection de l'appareil photosynthétique contre un excès d'énergie lumineuse [8]. Cependant cette augmentation est plus importante pour Hedba 3 (132 %) que pour Durelle (107 %). Le signal oxygène est inhibé de la même manière pour les deux variétés jusqu'à une

**Tableau III.** La température du pic (T<sub>p</sub>) de fluorescence initiale F<sub>o</sub> mesurée sur les feuilles de 34 variétés et génotypes de trois céréales (blé dur, orge et triticale). Les feuilles ont été chauffées graduellement (1 °C par minute) et la fluorescence F<sub>o</sub> a été mesurée simultanément.

Blé dur	Tp (°C)	Orge	Tp (°C)	Triticale	Tp (°C)
Cando	62	C. Mariout	62	33-1-4	60.5
1658	62	Giza 119	61.5	Claircal	59.5
Waha	61	905	61	23-4-3	57.5
M. B. Bachir.	60.5	071	60.5		
Hedba 3	60.5	Tichdrett	60		
Oued Zenati	60	Acsad 60	58		
Bidi 17	60	Faiz	58		
Jori	59.5	Barberousse	58		
Maghrebi	59	Rihane	57		
Inrat 69	59	126	55.5		
Tassili	58.5	128	54.5		
Polonicum	56				
Acsad 65	58				
Agathe	58				
Poinville	57.5				
Cocorit C71	57				
Clairdoc	57				
Tomclair	56				
Durtal	55				
Durelle	54				

intensité lumineuse de 3 000 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, intensité à partir de laquelle on constate une plus importante inhibition de A<sub>ox</sub> pour la variété Durelle (51 %) que pour Hedba 3 (22 %),

Sur la figure 5.b, l'évolution du signal thermique et oxygène est illustrée pour les deux variétés soumises à un traitement lumineux (4 000 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) pour des durées croissantes de 0 à 40 min. On constate que la variété Hedba 3 augmente très rapidement son signal thermique pour atteindre un plateau (168 %) après 20 min alors que la variété Durelle n'atteint ce plateau qu'après 30-35 min. Le signal d'oxygène est inhibé suivant la durée du traitement. Néanmoins, cette inhibition est plus importante pour la variété Durelle : après 20 min de traitement A<sub>ox</sub> ne vaut plus que 28 % du témoin, alors que pour Hedba 3, il est de 78 % du témoin.

Le rapport  $A_{ox}/A_{pt}$  est une mesure relative du rendement quantique d'O<sub>2</sub>. Ce rapport a été mesuré dans les feuilles de quatre variétés de blé dur (Hedba 3, Bidi 17, Durelle et Agathé) soumises à un traitement lumineux (4 000 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> pendant 20 min). Les résultats sont illustrés au Tableau IV.

Chez les deux variétés tolérantes Hedba 3 et Bidi 17, le signal photoacoustique d'oxygène a été largement préservé (le rapport  $A_{ox}/A_{pt}$  a été inhibé respectivement de 41 et 39 %).

Cette inhibition est beaucoup plus importante pour les variétés sensibles Durelle et Agathé (respectivement 79 et 85 %).

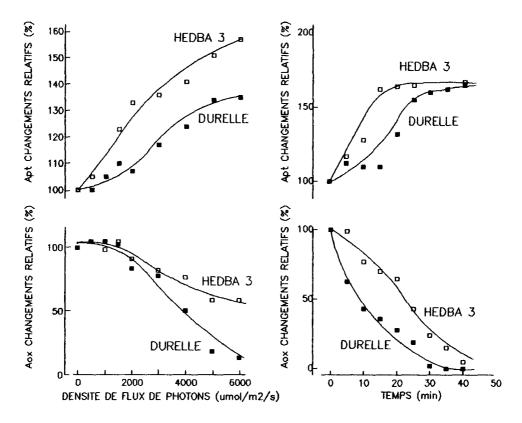


Figure 5. Evolution des signaux thermiques (A<sub>pt</sub>) et d'oxygène (A<sub>ox</sub>) mesurés par la technique photoacoustique sur les feuilles de blé dur (Variétés Hedba 3 et Durelle) soumise à : (a) traitement lumineux pendant 20 min à différentes intensités; (b) traitement lumineux de 4 000 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> pendant des durées croissantes de 0 à 40 min. Les composantes thermiques (A<sub>pt</sub>) et d'oxygène (A<sub>ox</sub>) sont exprimées en % du témoin.

Après le traitement lumineux, les plantes ont été réadaptées à l'obscurité pendant 120 min, et le rapport  $A_{ox}/A_{pt}$  a été mesuré de nouveau (Tableau IV) afin de déterminer la réversibilité des changements observés dans les deux composantes du signal photoacoustique, suite au traitement lumineux. L'adaptation à l'obscurité des plantes entraîne un retour rapide du signal thermique et du signal d'oxygène, qui retrouvent leur valeur initiale d'avant le traitement lumineux. Cependant, après 120 min d'adaptation à l'obscurité, le rétablissement de ces signaux est beaucoup plus lent pour les deux variétés Durelle et Agathé (respectivement 68 et 45 %) que pour Hedba 3 (95 %) et Bidi 17 (100 %).

Ces résultats montrent la simplicité et la rapidité des techniques photoacoustiques pour étudier les effets d'un stress lumineux sur les plantes et la mise en évidence de variétés résistantes à ce stress. D'autres applications pratiques des techniques photoacoustiques sont présentées par Havaux et al. [5, 8].

**Tableau V.** Classement des variétés de blé dur pour la tolérance au déficit hydrique suivant les tests utilisés.

Variétés	(a)*	**	(p),	k*	(c)*	*	(d) <sup>,</sup>	**	(e)*	*	(f)*	*
Mongolfier	01	TR*	06	R			02	TR	01	TR	02	TR
Hedba	02	TR	03	TR	01	R	03	TR	02	TR	01	TR
Polonicum	03	TR	02	TR	06	R	01	TR	05	TR	04	TR
O. Zenati	04	R-TR	01	TR	04	R	04	TR	03	TR	03	TR
Tassili	05	R-TR	07	R	05	R	06	TR-R	06	R-TR	06	R-TR
Bidi 17	06	R-TR	04	TR	03	R	05	TR-R	04	TR	05	R-TR
Aziza	07	R	05	TR	11	S	11	S	12	S	12	S
Coinia	08	R	10	R			12	S	11	S	11	S
Maghrebi	09	R	09	R	06	S	08	R-S	07	R	07	R
Raroub	10	R	08	R	07	S	07	R	09	R-S	10	S
Sahel	11	R-S	11	R			09	S	08	R	09	S-R
Tell	12	R-S	13	S			10	S	10	R-S	08	R
Durelle	13	TS-S	14	S	08	S	13	TS-S	14	TS-S	15	TS
Cando	14	TS	18	TS	09	S	16	TS	15	TS	13	TS-S
Mondur	15	TS	12	S	10	S	15	TS	13	S-TS	14	TS-S
Capdur	16	TS	15	TS			14	TS-S	17	TS	18	TS
Tomclair	17	TS	17	TS	11	S	19	TS	16	TS	17	TS
Poinville	18	TS	16	TS	12	S	18	TS	19	TS	19	TS
Créso	19	TS	19	TS			17	TS	18	TS	16	TS

<sup>(</sup>a) Déficit du rendement.
(b) Fluorescence continue ((P-S)/S).
(c) Fluorescence modulée (q<sub>0</sub>).
(d) Concentration en proline.
(e) Turgescence relative.
(f) Différence des températures.
(\*) Les classes de tolérance ont été définies par analyse de variance avec chevauchement entre classes.
TR = Très résistant.
R = Résistant.
S = Sensible.
TS = Très sensibles.
(\*\*) Classement établi sur une moyenne de quatre ans.

Tableau IV. Effet d'un traitement lumineux à  $4\,000~\mu\text{mol}~m^{-2}~s^{-1}$  pendant 20~min sur le paramètre photoacoustique  $A_{ox}/A_{pt}$  (exprimé en % du témoin) sur les feuilles de 4 variétés de blé dur. Après le traitement lumineux les plantes ont été réadaptées à l'obscurité pendant 120~min et le rapport  $A_{ox}/A_{pt}$  a été mesuré de nouveau (exprimé en % du témoin).

Variétés	Stress lumineux	Réversibilité
	$A_{ox}/A_{pt}$	$A_{ox}/A_{pt}$
Hedba 3	59 %	95 %
Bidi 17	61 %	100 %
Durelle	21 %	68 %
Agathe	15 %	45 %

## Conclusion

Ces résultats confirment l'intérêt des mesures in vivo de la fluorescence de la chlorophylle et de la photoacoustique pour l'étude de l'adaptation des plantes cultivées aux contraintes de l'environnement. Nous avons montré que la conservation du mécanisme d'extinction de la fluorescence (ou tout au moins de la composante photochimique de cette extinction) dans les feuilles rapidement déshydratées est caractéristique de plantes résistantes à la sécheresse et peut ainsi servir d'indicateur simple et rapide de la tolérance relative à la sécheresse chez le blé dur. En effet, une bonne corrélation a été mise en évidence entre cette technique et la mesure du rendement sous conditions de sécheresse en champs (Tableau V), ce qui confirme l'intérêt de cette technique de fluorescence.

## Références

- 1. Bilger W, Schreiber U, Langer OL. (1984). Determination of leaf heat resistance: comparative investigation of chlorophyll fluorescence changes and tissue necrosis methods. *Oecologia*; 63: 256-62.
- 2. Bults G, Horwitz BJ, Malkin S, Cahen D. (1982). Photoacoustic measurements of photosyntetic activities in whole leaves. Photochemistry and gas exchange. *Biochim Biophys Acta*; 679: 452-465.
- 3. Genty B, Briantais J-M, Vieira Da Silva JB. (1987). Effects of drought on primary photosynthetic processes of cotton leaves. *Plant Physiol*; 83: 360-4.
- 4. Govindjee Downton WJS, Fork DC, Armond PA. (1981): Chlorophyll a fluorescence transient as an indicator of water potential of leaves. *Plant Sci Lett*; 20: 191-4.
- 5. Havaux M, Canaani O, Malkin S. (1986a). Photosynthetic responses of leaves to water stress, expressed by photoacoustic method as an indicator for water stress in vivo. Plant Physiol; 82: 827-33.
- 6. Havaux M, Canaani O, Malkin S. (1986b). Photosynthetic responses of leaves to water stress, expressed by photoacoustic and related methods. I. Probing the photoacoustic method as an indicator for water stress in vivo. Plant Physiol; 82: 827-33.
- 7. Havaux M, Canaani O, Malkin S. (1987). Inhibition of photosynthetic activities under slow water stress measured in vivo by photoacoustic method. Plant Physiol; 70: 503-10.
- 8. Havaux M, Ernez M, Lannoye R. (1988b). Correlation between heat and drought tolerance in cereals demonstrated by rapid chlorophyll fluorescence tests. *J Plant Physiol*; 133: 555-60.
- 9. Monneveux P, Nemmar M. (1986). Contribution à l'étude de la résistance à la sécheresse chez le blé tendre (*Triticum aestivum L*.) et chez le blé dur (*Triticum durum Desf.*): étude de l'accumulation de la proline au cours du cycle de développement. *Agronomie*; 6: 583-90.
- 10. Poulet P. Cahen D. Malkin S. (1983). Photoacoustic detection of photosynthetic oxygen evolution from leaves. Quantitative analysis by phase and amplitude measurements. *Biochim Biophys Acta*; 724: 433-46.

## Quantification des désordres photosynthétiques chez la plante stressée

- 11. Schreiber U, Berry JA. (1977). Heat-induced changes of chlorophyll fluorescence in intact leaves correlated with damage of photosynthetic apparatus. *Planta*; 136: 233-8.
- 12. Schreiber U. (1983). Chlorophyll fluorescence as a tool in plant physiology. I. The measuring system. *Photosynthesis Res*; 10: 361-73.
- 13. Schreiber U, Schliwa U, Bilger W. (1986). Continuous recording of photochemical and non-photochemical fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer. *Photosynthesis Res*; 10: 51-62.
- 14. Smillie RM, Gibbons GC. (1981). Heat tolerance and heat hardening in crop plants measured by chlorophyll fluorescence. Carlsberg Res. *Commun*; 46: 395-403.
- 15. Smillie RM, Hetheringthon SE. (1983). Stress tolerance and stress-induced injury in crop plants measured by chlorophyll fluorescence in vivo. Plant Physiol; 72: 1043-50.

3

## Polymorphisme variétal de résistance à la sécheresse chez les céréales à paille : cas du blé

M. BEN SALEM\*, J.P. VIEIRA DA SILVA\*\*

## Résumé

Dans cette étude réalisée sur trois variétés de blé dur et trois variétés de blé tendre, présentant des caractéristiques agronomiques et phénologiques variables nous avons montré l'existence d'un polymorphisme variétal important de résistance à la sécheresse. Celle-ci ne semble pas liée, dans le cas des génotypes étudiés, à un comportement isolé de la variété mais à une stratégie, mettant en œuvre plusieurs mécanismes de tolérance et (ou) d'évitement de la contrainte hydrique.

## Introduction

La résistance physiologique au manque d'eau des céréales est associée fréquemment, à un comportement isolé de la variété. L'aptitude du blé à résister à la contrainte hydrique est ainsi liée à plusieurs mécanismes dont : un système radiculaire extensif [10, 15], une fermeture rapide des stomates durant l'installation d'un déficit hydrique, une efficience élevée de l'utilisation de l'eau [9, 11], le

<sup>\*</sup> INRAT, 2049 Ariana, Tunis, Tunisie

<sup>\*\*</sup> Laboratoire d'Ecologie Générale et Appliquée, Université Paris VII, 2, place Jussieu. 75221 Paris Cedex 05. France

maintien d'un potentiel de turgescence élevé [12, 14], une capacité élevée d'accumulation et de mobilisation des glycades de réserve pendant la phase de remplissage des grains [1, 3].

Toutefois, l'association fréquente de la résistance au manque d'eau des céréales à un comportement isolé de la variété est, en partie, à l'origine de plusieurs avis contradictoires. Ainsi, d'après Blum [4] les génotypes de blé résistants à la sécheresse ne ferment pas leurs stomates en présence d'un déficit en eau. Par ailleurs, d'après Wright et Doberanz [20] et Levitt [13], l'aptitude des végétaux à produire en présence d'un manque d'eau n'est pas nécessairement liée à une efficience élevée de l'utilisation de l'eau. En outre, la résistance à une contrainte hydrique n'est associée, dans le cas du blé, ni à l'aptitude de la variété à accumuler et à mobiliser les glucides de réserve [7], ni à des capacités élevées d'ajustement osmotique [6].

Dans ce travail nous essayons d'expliquer les différences de sensibilité à la contrainte hydrique chez diverses variétés de blé dur et tendre, soumises à trois régimes d'irrigation.

## Matériel végétal

Nous avons utilisé au cours des diverses expérimentations trois variétés de blé dur (*Triticum durum Desf.*): Inrat 69, Maghrébi 72 et Ben Bachir et trois variétés de blé tendre (*Triticum aestivum* L.): Ariana 66, Dougga 74 et Florence × Aurore (F × A). Le choix des variétés a été effectué sur la base des différences portant essentiellement sur l'origine génétique, la précocité d'épiaison, la hauteur de la paille et la productivité.

### Mode de culture

Les cultures ont été réalisées, suivant le type d'expérience, dans deux séries de pots. La première est constituée par des pots en plastique à double fond. Leurs diamètres supérieur et inférieur sont respectivement de 29 et 18,5 cm. Leur profondeur est de 25 cm. Ils peuvent contenir jusqu'à 10 kg de terre. La deuxième série est constituée par des pots également en plastique, mais de dimension plus petite, leurs diamètres supérieur et inférieur sont respectivement de 16 et 12,5 cm. Leur profondeur est de 15 cm. Ils peuvent contenir 3 kg de terre.

#### Mesures

La sensibilité variétale à la contrainte hydrique a été associée à deux paramètres agronomiques : l'indice de récolte et l'efficience de l'utilisation de l'eau pour la production de grains et à deux paramètres physiologiques : la résistance stomatique à la diffusion de vapeur d'eau et l'intégrité cellulaire.

## Sensibilité variétale à la contrainte hydrique

Les six variétés étudiées ont été soumises à trois niveaux d'irrigation appliqués d'une façon continue depuis le stade quatre feuilles jusqu'à la maturité :

- T<sub>1</sub>: Irrigation à 100 % des réserves en eau utile du sol (témoin);
- T<sub>2</sub>: Irrigation à 70 % des réserves en eau utile du sol (carence hydrique modérée);
- T<sub>3</sub>: Irrigation à 20 % des réserves en eau utile du sol (carence hydrique sévère).

Les semis ont été réalisés dans les pots de la première série à raison de six plants par pot. Le substrat de culture est formé par un sol prélevé sur la couche arable de la station de l'INRAT à l'Ariana. Les pots ont été installés sur des wagonnets mobiles sur rails, pouvant être abrités en cas de besoin, dans un hangar ouvert sur la face sud. Le contrôle du niveau d'eau dans le sol a été réalisé par des pesées consécutives des pots.

#### L'indice de récolte

Ce paramètre est déterminé par le rapport du rendement final en grains à la matière sèche aérienne produite à maturité.

#### Efficience de l'utilisation de l'eau pour la production de grains

Elle a été calculée à partir du rapport de la quantité totale d'eau consommée à celle de la production en grains, déterminée à la récolte. La consommation d'eau a été estimée par des pesées successives des pots depuis le stade quatre feuilles jusqu'à la maturité des grains.

## Mesure sur feuilles détachées de la résistance des stomates à la diffusion de vapeur d'eau

L'appareil utilisé pour ces mesures est de type « LI65 Autoporomètre ». Celles-ci ont été réalisées sur des jeunes plants dont la largeur des feuilles ne permettait pas encore d'exploiter la totalité de l'ouverture de la chambre stomatique. Nous avons alors réduit celle-ci de moitié. Les lectures ont été effectuées sur la face inférieure de l'avant dernière feuille. La première mesure a été réalisée sur la feuille non détachée. Les autres mesures ont été effectuées sur la même feuille mais détachée du plant mère. Nous avons utilisé, dans le cas de cet essai, des pots de petite dimension. Le substrat de culture est formé par un sol appelé communément « terre à betterave ». Les pots ont été instàllés dans des serres vitrées où en plus de la lumière du jour, des lampes fournissent une lumière blanche de 150 Wm<sup>-2</sup> au niveau des feuilles.

## Mesure de l'intégrité membranaire

L'intégrité membranaire a été évaluée par conductimétrie suivant la méthode décrite par Dexter [8], et améliorée par Sullivan [17] et Sullivan et Ross [18]. Elle est utilisée dans le cas du Blé par Blum et Ebercon [5] et Ben Salem [2].

## Résultats

## Sensibilité variétale à la contrainte hydrique calculée sur la base du rendement en grains

La variété Dougga 74 est la moins touchée par une carence hydrique modérée (Tableau I). Lorsque la contrainte hydrique est plus sévère (20 % REU), Dougga 74 est classée comme étant la plus tolérante suivie dans ce cas par Inrat 69. La variété Maghrébi 72 est en revanche la plus sensible enregistrant, une perte de rendement de 72 % par rapport au témoin.

#### L'indice de récolte

La variété Inrat 69 (résistante) a montré, quelle que soit la contrainte hydrique, l'indice de récolte le plus bas.

La variété Ben Bachir conserve toujours l'indice de récolte le plus élevé pour la contrainte hydrique sévère (Tableau II) alors que pour Maghrébi 72, cet indice

**Tableau I.** Indice de résistance à la sécheresse (IRS) calculé sur la base du rendement en grains.

Variétés	T <sub>2</sub> (70 % REU)	(CL)*	T <sub>3</sub> (20 % REU)	(CL)*
Inrat 69	93	(3)	64	(2)
Maghrébi 72	91	(4)	28	(6)
Ben Bachir	93	(2)	54	(3)
Ariana 66	82	(6)	57	(4)
Dougga 74	141	(1)	77	(1)
$F \times A$	87	(5)	41	(5)

<sup>\*</sup> CL = Classement $\frac{Traitement}{t \neq moin} \times 100 = IRS$ 

Tableau II. Variation de l'indice de récolte déterminé à la maturité en fonction du traitement et de la variété.

<u> </u>	Traitement					
Variétés	T <sub>1</sub> (100 % REU)	T <sub>2</sub> (70 % REU)	T <sub>3</sub> (20 % REU)			
Inrat 69 (BD)	0,18	0,23	0,15			
Maghrébi 72 (BD)	0,40	0,41	0,30			
Ben Bachir (BD)	0,34	0,56	0,40			
Ariana 66 (BT)	0,25	0,29	0,33			
Dougga 74 (BT)	0,30	0,35	0,38			
$F \times A (BT)$	0,32	0,35	0,34			

REU: Réserves en eau utile du sol.

accuse une chute importante passant de 0,4 dans le cas de la contrainte hydrique modérée à 0,3 pour la contrainte hydrique sévère.

Par ailleurs, l'indice de récolte augmente graduellement pour Dougga 74 et Ariana 66 en fonction de la sévérité de la carence hydrique (Tableau 2). Ainsi, il est de 0.30 - 0.35 et 0.38 pour Dougga 74 et 0.25 - 0.29 et 0.32 pour Ariana 66 respectivement pour le témoin  $(T_1)$  la carence hydrique modérée  $(T_2)$  et la carence hydrique sévère  $(T_3)$ .

## Variation de l'efficience de l'utilisation de l'eau pour la production de grains

Les deux variétés les plus résistantes à la contrainte hydrique sévère et continue ont montré des efficiences de l'utilisation de l'eau opposées (fig. 1). Ainsi, Inrat 69 est, quel que soit le cas, la moins efficiente, en revanche Dougga 74 est la plus efficiente en présence de la contrainte hydrique sévère. La variété Inrat 69 est la moins efficiente quand on considère la même contrainte (20 % REU), suivie par Maghrébi 72.

## Variation sur feuilles détachées de la résistance des stomates à la diffusion de vapeur d'eau

Quand les feuilles ne sont pas encore détachées de la plante mère les différences entre les résistances stomatiques ne sont pas significatives. Celles-ci sont de l'ordre de 3 sec cm<sup>-1</sup> (fig. 2).

Sur ces feuilles détachées, après dix minutes de dessèchement, la variété Ariana 66, moyennement résistante à la contrainte hydrique continue, se distingue par une fermeture stomatique plus élevée ( $R_s = 22 \text{ sec cm}^{-1}$ ). La résistance stomatique d'Ariana 66 reste plus élevée que celle des autres variétés. Remarquons que cette variété s'est caractérisée par une résistance élevée à la contrainte hydrique sévère et fractionnée [2].

## Variation de l'intégrité membranaire en fonction d'une contrainte osmotique (PEG: -33 bars)

Les pourcentages de dommage mesurés par conductimétrie augmentent, pour toutes les variétés, en fonction de l'âge. Toutefois, les mesures effectuées entre 80 et 100 jours après la levée ont permis de détecter des différences importantes entre les diverses variétés étudiées (fig. 3).

Ainsi, à 80 jours après la levée la variété la moins sensible à la déshydratation est Ariana 66, la plus sensible étant Inrat 69. Les différences entre les autres variétés ne sont pas significatives. Ce classement est globalement conservé à 100 jours après la levée.

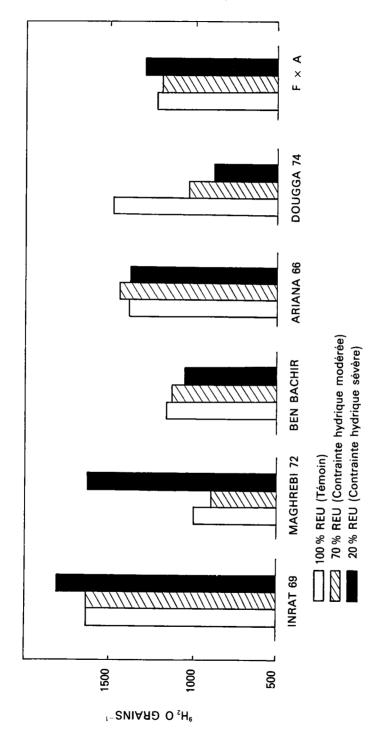


Figure 1. Variation de l'efficience de l'utilisation de l'eau pour la production de grains en fonction de la contrainte hydrique.

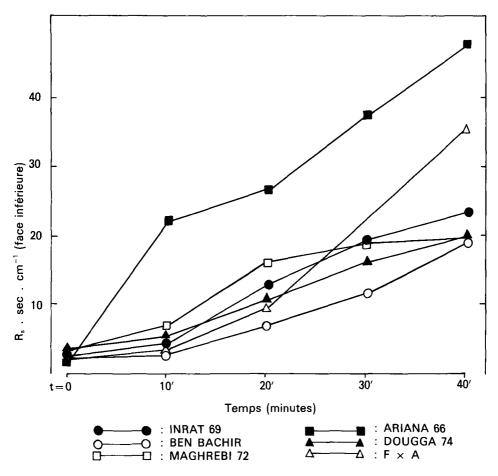


Figure 2. Variation en fonction du temps de la résistance des stomates à la diffusion de vapeur d'eau (sur feuilles détachées).

## **Discussions**

La contrainte hydrique continue et sévère (20 % de la REU) a permis d'obtenir une bonne séparation variétale en fonction de la résistance au manque d'eau.

Par ailleurs, les variétés étudiées se sont caractérisées par des comportements différents en fonction de la contrainte hydrique. Ainsi, la bonne résistance de la variété de blé dur Inrat 69 à la contrainte hydrique sévère n'est pas associée, dans les conditions de nos expériences, ni à une efficience élevée de l'utilisation de l'eau, ni à un bon contrôle stomatique des pertes d'eau. La mauvaise efficience de l'utilisation de l'eau pour la production de grains de la variété Inrat 69, se traduit

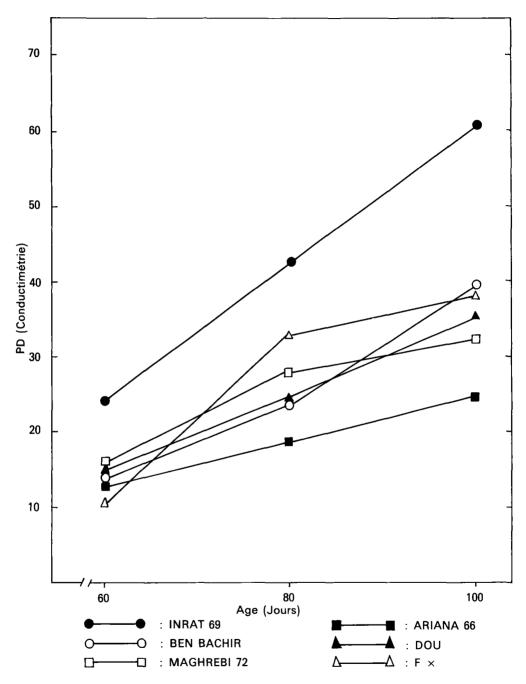


Figure 3. Evolution des pourcentages de dommage (PD) évolués par la méthode conductimétrique en fonction de l'âge et de la variété (déshydratation par PEG 600 : — 32,9 bars).

par son indice de récolte le plus bas de toutes les variétés. Il en résulte un développement foliaire surdimensionné par rapport à la production en grains de la variété. Nos résultats sont en accord avec ceux de Richards [16] et Woodruff et Tonks [9]. La résistance à la contrainte hydrique de cette variété n'est pas non plus liée à une résistance protoplasmique élevée. Nous avons montré [2] que la variété Inrat 69 évite la sécheresse essentiellement grâce à ses capacités élevées d'accumuler et d'utiliser les glucides de réserve, et à une bonne participation de l'épi au remplissage des grains. En outre, les capacités élevées de récupération constituent pour cette variété un important mécanisme de résistance à la sécheresse.

Pour Dougga 74, la résistance à la contrainte hydrique continue semble être associée à des mécanismes de tolérance permettant à cette variété de conserver la meilleure efficience de l'utilisation de l'eau en présence de la carence hydrique sévère. Cette variété montre d'ailleurs, en moyenne, une bonne résistance protoplasmique à la déshydratation (fig. 3).

Pour Ariana 66, la résistance à la contrainte hydrique est associée à une meilleure résistance protoplasmique au déficit hydrique. Ceci s'explique par un mécanisme d'évitement de la carence hydrique par une meilleure régulation stomatique des pertes d'eau. Cette variété se caractérise par une résistance moyenne à la contrainte hydrique continue, mais montre des aptitudes élevées de résistance au manque d'eau fractionnée [2].

Les variétés sensibles telle que Maghrébi 72 ne se caractérisent par aucun mécanisme évident pour l'évitement ou pour la tolérance au manque d'eau.

## Conclusion

Il apparait, contrairement aux résultats de plusieurs auteurs dont Kaul et Crowle [11], Green et Read [9] et Blum [4], que la résistance au manque d'eau des céréales n'est pas associée à un comportement physiologique isolé de la variété mais à une « stratégie » englobant un ou plusieurs mécanismes de tolérance et (ou) d'évitement de la contrainte hydrique. En raison du caractère imprévisible de la contrainte hydrique, la meilleure « stratégie » serait celle qui permet à la variété de présenter un large spectre d'adaptation.

## Références

- Austin RB. (1979). Physiological limitations to cereal yields and ways of reducing them
  by breeding. In: Eds Hurd RG, Biscoe PV. et Dennis C. Opportunities for increasing
  crop yields. Pitman Advanced Publishing Program. Boston London. Melbourne,
  pp. 3-19.
- 2. Ben Salem M. (1988). Etude comparative de la résistance à la sécheresse de quelques variétés de blé. Thèse Doc. d'Etat ès-sciences univ, Paris VII, Centre de Jussieu, 379 p.
- 3. Ben Salem M, Vieira Da Silva JP. (1986). Etude de quelques aspects de la résistance à la sécheresse du blé. Importance des réserves en glucides totoaux dans la formation du grain de blé. Colloque sur les végétaux en milieu aride. Tunisie (Jerba), 8-10 sept, 1986.

## M. Ben Salem, J.P. Vieira da Silva

- 4. Blum A. (1982). Evidence for genetic variability in drought resistance and its implications for plant breeding. In: drought resistance in crops with emphasis on rice: 53-68. International rice research institute (Los Banos, Laguna, Philippines).
- 5. Blum A, Ebercon A. (1981). Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat. *Crop Sci*; 21: 43-7.
- Campell GS, Papenkick RI, Rabie E, Shayo Ngowi AJ. (1982). A comparaison of osmotic potential, elastic modulus et apoplastic water in leaves of dryland wheat. Agro Jour; 71: 31-6.
- 7. Clarke JM, Townley-Smith TF, Mc.Caig TN, Green DG. (1984). Growth analysis of spring wheat cultivars of varying drought resistance. Crop Sci; 24: 537-41.
- 8. Dexter ST. (1956). Evaluation of crop plants for winter hardiness. Adv Agron; 8: 203-9.
- 9. Green DG, Read DWL. (1983). Water use efficiency of corn, sunflower and wheat with limiting soil moisture. Can J plant sci; 63: 747-9.
- 10. Hurd EA. (1974). Phenotype and drought tolerance in wheat. Agr Meteorol; 74: 39-55.
- 11. Kaul R, Growle WL. (1974). An index derived from photosynthetic parameters for predicting grain yields of drought stressed wheat cultivars. Z Pflanzer, Zuech; 71: 42-51.
- 12. Keim DL, Kronstad WE. (1981). Drought responses of winter wheat cultivars grown under field stress conditions. *Grop Sci*; 21:11-4.
- 13. Levitt J. (1980). Responses of plants of environmental stresses, 2nd Ed., Vol II: Water, radiation, salt and other stresses: 607 p. Acad Press. New York. London, Sydney. San Francisco.
- 14. Morgan JM, Condon AG. (1986). Water use, grain yield and osmoregulation in bread and drurum wheats and its relation-ship to grain yield in a range of field environments. *Aust J Agric Res*; 37: 449-57.
- 15. Passioura JB. (1982). The role of root system characteristics in the drought resistance of crop plants. *In* "International rice research institute. Drought resistance in crops, with emphasis on Rice". Los Banos, Philippines.
- 16. Richards RA. (1983). Manipulation of leaf area and its effects on grain yield in droughted wheat. Aust J Agric Res; 34: 23-31.
- 17. Sullivan CV. (1972). Mechanisms of heat and drought resistance in grain sorghum and methods of measurement. In: Ed. Rao NGP. House LR. Sorghum in the seventies. Oxford and IBH Publishing Co, New Delhi, India.
- Sullivan CV, Ross WM. (1979). Selecting for drought and heat resistance in Sorghum.
   In: Ed. Mussel H. Staples R. Stress physiology in crop plants. John Wiley and Sons, New York
- 19. Woodruff DR, Tonks J. (1983). Relationship between time of anthesis and grain yield of wheat genotypes with differing developmental patterns. Aust J Agric Res; 34: 1-11.
- 20. Wright LN, Doberanz AK. (1970). Efficiency of water use and seedling drought tolerance of Boer Lovegrass, *Eragrostis Curvula* Nees. *Crop Sci*; 10: 1-2.

L'amélioration des plantes pour l'adaptation aux milieux arides. Ed. AUPELF-UREF. John Libbey Eurotext. Paris © 1991, pp. 35-50.

4

# Tolérance génétique des céréales au VJNO et à la sécheresse

C.A. ST-PIERRE\*, Ph. MONNEVEUX\*\*, A. COMEAU\*\*\*

- \* Université Laval, Ste-Foy, Québec, G1K 7P4 Canada
- \*\* Ecole nationale supérieure agronomique, Chaire de phytotechnie, Station d'Amélioration des Plantes, ENSA-INRA, 2, place Viala, 34060 Montpellier Cedex, France \*\*\* Agriculture Canada, Ste-Foy, Québec, France GIV 2L3 Canada

## Résumé

La sélection de génotypes tolérants à diverses contraintes de l'environnement continue de représenter un défi de taille aux sélectionneurs de céréales. Nous présentons ici diverses stratégies de sélection susceptibles de permettre une identification rapide de lignées fixées capables à la fois de résister au virus de la jaunisse nanisante de l'orge (VJNO) et de mieux tolérer un déficit hydrique. Nous proposons également des voies de recherche prometteuses en ce sens.

## Introduction

Depuis les années 1950, les sélectionneurs ont développé et diversifié les méthodologies traditionnelles de sélection des céréales. La sélection pédigree de populations en ségrégation a été remplacée par diverses techniques dont le rétrocroisement, la sélection massale, les populations composites, l'irradiation, les cultivars multilignes et bien d'autres encore. La revue de Jensen [18] sur ce sujet a permis de proposer une sélection diallèle sélective de croisements (diallel selective mating system) précisant les limites des programmes d'amélioration génétique des végétaux. Au cours des dix dernières années, de nouvelles technologies génétiques ont été proposées : haplodiploïdisation, injections d'ADN, cultures d'embryons, qui prendront sans doute, dans les années à venir, une place importante dans les programmes de sélection.

Nous allons concentrer nos efforts sur une interaction importante, mais peu connue : l'effet conjoint du virus de la jaunisse nanisante de l'orge (VJNO) avec la sécheresse. Nous allons également préciser les stratégies de sélection nécessaires pour contrer les effets potentiellement dévastateurs de cette interaction.

Cette communication vise à montrer les réalisations du « projet Laval » de résistance et de tolérance génétique au VJNO et leur interaction avec la sécheresse.

Les thèmes suivants seront abordés :

- 1. Présentation de l'approche pragmatique développée à l'Université Laval afin d'isoler les gènes de résistance et de tolérance au VJNO chez les céréales;
- 2. Sélection pour l'adaptation à la sécheresse;
- 3. Discussion de l'interaction « VJNO-sécheresse » et proposition d'un projet de recherche visant :
- à tester l'importance de l'interaction VJNO-sécheresse;
- la définition d'un schéma de sélection des céréales.

Quelques définitions s'imposent au départ. Le terme tolérance se réfère à un faible niveau de dégats en présence de stress ou de maladie. Le terme résistance signifie la faculté pour une plante d'inhiber la multiplication d'un pathogène (ce qui en retour peut avoir pour conséquence un certain degré de tolérance chez la plante). Les deux termes ne sont pas synonymes et il existe de nombreux gènes de tolérance sans qu'il y ait résistance.

## La tolérance génétique des céréales au VJNO

Le VJNO est reconnu comme le virus causant le plus de dommages aux céréales dans le monde [16]. Après inoculation, les lignées sensibles ne peuvent former de grains et les lignées modérément tolérantes subissent des dégâts variant de minimes à importants. Les cultivars tolérants et bien adaptés à une région fournissent de très bons rendements. Il semble, de plus, que de tels cultivars tolérants seraient moins sensibles aux variations importantes de l'environnement. Comeau et Jedlinski (1987) rapportent que les lignées les plus tolérantes au VJNO se distinguent également par leur bon rendement en conditions sèches et par leurs bonnes performances en conditions humides. Au Canada, nous avons observé que les céréales tolérantes au VJNO sont également résistantes à l'hiver.

Le VJNO est un représentant type des lutéovirus (Shepherd et al., 1976). Ce petit virus à ARN se multiplie dans les tissus du phloème des plantes infectées. Le virion est un polyhèdre isodiamétrique de 20 à 24 nanomètres de diamètre et dont le poids moléculaire est de l'ordre de 2\*10<sup>6</sup> daltons [30]. Il circule dans le système sanguin et la salive de l'insecte. Lorsqu'il est transmis à la plante par un puceron, il se multiplie très rapidement dans le phloème et engendre des jaunisses. Les symp-

tômes visuels apparaissent après 14 jours chez l'orge et se manifestent de 6 à 40 jours après inoculation chez les autres espèces de céréales.

Le VJNO se retrouve chez toutes les céréales et chez plus de cent espèces de graminées fourragères. Bruehl explique la distribution géographique mondiale du VJNO par la diversité des hôtes de ce virus [3].

La figure 1 présente le cycle biologique du plus dangereux puceron vecteur du VJNO: Rhopalosiphum padi, et la figure 2 montrent les méthodes agronomiques et génétiques qui contribuent à combattre la maladie ou le virus. Seuls des pucerons peuvent transmettre le virus aux végétaux cultivés. On peut donc songer à exclure le virus, totalement ou partiellement, d'une culture, en limitant sa reproduction, celle de ses pucerons vecteurs ou les deux à la fois. La protection chimique contre le virus est actuellement impossible en raison de l'absence de viricides. La protection chimique contre les pucerons vecteurs présente de graves lacunes: en effet, il suffit à un puceron de se nourrir pendant quelques minutes pour pouvoir transmettre la maladie. Le coût des insecticides, les risques pour les céréaliculteurs et l'environnement ainsi que l'efficacité relative des produits limitent sérieusement cette option. La lutte biologique, avec l'introduction de prédateurs et de parasites des pucerons, a donné des résultats intéressants en Amérique du Sud, sans toutefois régler entièrement le problème. D'où l'intérêt d'une tolérance génétique au VJNO, incorporée dans le génotype des cultivars tolérants ou résistants.

Certains pucerons ailés peuvent toutefois acquérir le virus d'une plante tolérante et regagner le réservoir des nombreux hôtes sensibles pour leur transmettre le virus,

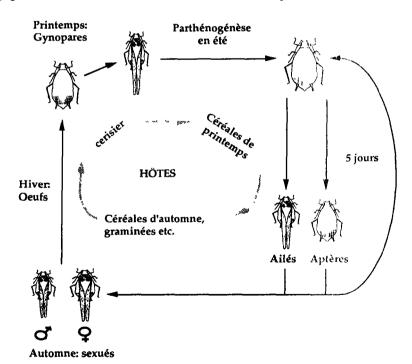


Figure 1. Le cycle biologique de Rhopalosiphum padi: puceron vecteur du VJNO.

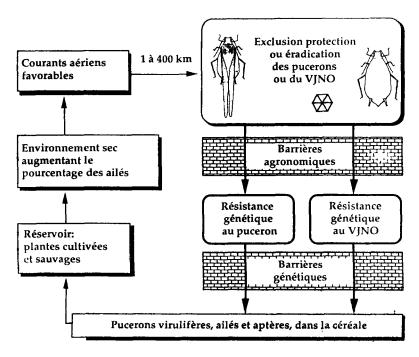


Figure 2. Le cycle annuel du Virus de la Jaunisse Nanisante de l'Orge (VJNO).

et ainsi redémarrer le cycle de la maladie. La répression de ces hôtes alternatifs semble toutefois inefficace car les graminées disponibles sont trop nombreuses et trop répandues.

Les symptômes, sous forme de feuilles jaunes avec un V inversé, sont faciles à observer chez l'orge. Les feuilles rouges de l'avoine ne présentent pas de problèmes d'identification lorsque l'infection est sévère. Chez le blé, en revanche, les symptômes sont très variables. En cas d'infection sévère, le bout des feuilles jaunit ou rougit, et le nanisme caractéristique du VJNO devient évident. Les infections tardives et légères occasionnent cependant des problèmes d'identification : les feuilles avec ou sans décoloration, mais plus courtes, rigides et à angles plus aigus par rapport à la tige, peuvent indiquer l'infection par le VJNO.

Chez le blé d'automne, le tallage réduit par le VJNO peut facilement être confondu avec les dommages occasionnés par l'hiver ou le froid. De plus, les plants de blé d'automne virosés deviennent plus sensibles aux moisissures nivéales. Certains triticales d'automne présentent des symptômes similaires à ceux rencontrés sur le blé tandis que d'autres semblent aussi tolérants que le seigle d'automne. Collin a décrit pour la première fois de tels symptômes avec précision [6]. Il note que la symptomatologie induite par le VJNO est particulière à chaque cultivar de blé, et peut facilement être confondue avec des dommages occasionnés par d'autres causes. Les symptômes causés par le VJNO en conditions sèches sont presque toujours confondus avec un effet de sécheresse; l'ambiguïté ne peut être levée que par l'usage du test sérologique ELISA.

Comeau et St-Pierre ont évalué, en microparcelles de trente plantes, la tolérance génétique de quarante mille lignées de céréales de printemps et de dix mille lignées de céréales d'automne [11]. A l'université Laval, une serre-tunnel protège certains essais et permet d'isoler l'effet du VJNO de celui du froid. Les essais au champ montrent l'effet du VJNO combiné à ses effets indirects : réduction de la résistance au froid et de la résistance aux moisissures. Une méthodologie similaire doit être développée afin d'isoler l'effet induit par la présence de virus de celui causé par la sécheresse et d'analyser avec précision l'interaction du virus avec la sécheresse.

Dans le but de trouver de nouvelles sources de tolérance ou de résistance au VJNO, certaines avoines sauvages ainsi que des élymes et des agropyres, étrangers et indigènes, sont actuellement étudiés à l'université Laval. Landry et al. [20] ont identifié Avena sterilis comme source de tolérance. Les agropyres et les élymes offrent également des sources de résistance et de tolérance [25, 26, 27]. Chez le triticale, il est bien évident que le réservoir des gènes du seigle offre une source de résistance intéressante (Collin et al. 1987). Le transfert de la résistance génétique du triticale au blé a été réussi par Nkongolo [23].

Ces recherches démontrent que la sélection traditionnelle d'une population issue du croisement d'un cultivar résistant avec un sensible, permet d'isoler les lignées résistantes ou tolérantes. Au Québec, Dubuc a produit des cultivars d'avoine tolérants au VJNO, et St-Pierre des orges résistantes à l'aide de schémas traditionnels de sélection: Dubuc utilise la sélection de descendances unipares et St-Pierre une modification mineure de la sélection pédigree (données non publiées).

Les conditions d'élevage des pucerons requièrent une technique particulière développée par Comeau afin de pouvoir récolter et distribuer efficacement des millions de pucerons dans les pépinières de sélection [8]. Cette innovation simple, mais essentielle, est de plus en plus utilisée mondialement par de nombreux chercheurs. Elle permet de sélectionner de grandes populations vis-à-vis de races particulières de virus en contrôlant les principaux facteurs d'hétérogénéité (date d'inoculation et isolat viral). L'uniformité des essais facilite ainsi l'évaluation de la tolérance.

Le Tableau I présente les symptômes observés sur les cultivars les plus résistants ou tolérants dans les essais menés à l'université Laval. Les années ont été choisies pour montrer certaines interactions entre le virus et la sécheresse : l'année 1987 était une année assez normale et 1988 fut très sèche. Ces cultivars ont été évalués en considérant le seuil de tolérance ou de résistance disponible pour chaque espèce. Chez les cultivars d'orge qui possèdent le gène de résistance Yd2, une inoculation au stade deux feuilles est très efficace. Chez les blés, sensibles, il est possible d'observer des gènes de tolérance à l'aide d'une inoculation plus tardive. Cette méthodologie doit tenir compte du stade de la plante lors de l'inoculation par le VJNO pour préciser la réaction génétique caractéristique à chaque cultivar (fig. 3 à 5). La présence d'un gène majeur de résistance donne une réaction qualitative et permet ainsi une sélection visuelle simple et efficace chez l'orge. Nous recherchons des gènes comparables pour le blé.

L'ensemble de ces résultats indique qu'une ligne continue de niveaux de tolérances pourrait être construite de 0 à 100 % à partir des tolérances connues chez les espèces de céréales et des résistances trouvées chez les espèces indigènes apparentées. On peut dès lors conclure que la tolérance génétique au VJNO est

#### C.A. St-Pierre, Ph. Monneveux, A. Comeau

Tableau I. Symptômes de VJNO sur des espèces et cultivars de céréales tolérants et sensibles au VJNO en 1987 (année normale) et en 1988 (année de sécheresse) à l'université Laval.

Espèces	Cultivars	Réaction au VJNO*	Symptômes**	
	Cultivals		1987	1988
Orge-6 rangs	Q.B. 235.6	Т	4.2	1.8
	Q.B. 172.15	T	3.9	1.8
	Bedford	S	6.8	7.7
Orge-2 rangs	Freja	T	5.7	2.3
	Corris	T	5.2	5.0
	Abee	S	7.8	8.5
Avoine	Q.O. 209.48	T T S	4.4	2.9
	Ogle		4.3	5.8
	Lamar	S	8.2	8.5
Blé tendre	Maringa	T	4.7	3.7
paille longue	IAS-20	T	5.7	5.6
	12thIBSWN459	S	8.2	7.3
Blé tendre	PF70354/bow's'	MT	6.7	4.7
paille courte	8182PcHari-678	MT	4.7	6.0
	12thIBSWN459	S	7.5	7.8
Blé durum	82pcDuros 476	T	3.7	5.0
	Belikh 2	MT	6.7	6.0
	12th IDSN.74	S	7.5	7.8
Triticale	83 TF 519.31.1	T	4.2	4.0
	Whale 'S'83cbst31	T	5.3	6.3
	Mapache	S	7.7	8.3

<sup>\*\*</sup> Echelle des symptômes : de 0 (aucun) à 9 (très sévères).

importante et que sa sélection, bien que présentement concentrée dans certains centres, est très rentable et assez facile, tant à l'aide des méthodologies traditionnelles que des nouvelles technologies.

# La tolérance génétique des céréales à la sécheresse

Près de 40 % des superficies emblavées en céréales sont semées en condition aride ou semi-aride, tandis que 60 % subissent régulièrement une sécheresse temporaire. La recherche d'une tolérance à la sécheresse consiste donc à sélectionner pour le meilleur rendement en conditions de déficit hydrique (Hurd [17]) en éliminant des déficiences simples transmises par quelques gènes plutôt que d'assembler de nombreux gènes de productivité (Frankel [13]). Nous adopterons d'emblée l'approche qui consiste à éliminer les « caractères négatifs » du rendement au lieu de tenter d'ajouter des « caractères positifs » transmis quantitativement.

<sup>\*</sup> Selon les essais antérieurs sous inoculation artificielle au champ, ces lignées étaient classées comme tolérantes au VJNO (T), modérément tolérantes (MT) ou sensibles (S).

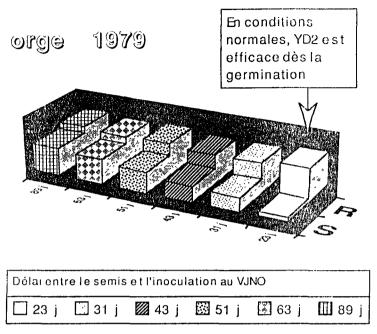


Figure 3. Dommages de VJNO observés sur un cultivar d'orge tolérant (R) et un autre sensible (S), dans des conditions climatiques normales. L'axe vertical représente le rendement relatif, et l'axe horizontal correspond à 6 dates différentes d'infection virale. L'orge sensible est endommagée même lors d'une infection tardive (10 jours avant la maturité).

Wallace et al. entendent par « gènes positifs » ceux dont il faut maximiser les effets pour obtenir un rendement optimal: interception lumineuse, indice foliaire, tolérance à la dessication, vitesse de fermeture des stomates et volume racinaire sont des facteurs liés à des « gènes positifs » [34]. Tous ces facteurs sont également très importants en conditions de déficit hydrique. Nous n'avons cependant pas jugé ces aspects comme prioritaires car nous pensons, comme Baker [1], que de nombreux caractères à héritabilité simple ont un effet très marqué sur le rendement. Nous présumons qu'un cultivar dépourvu de gènes de tolérance ou de résistance au VJNO ne peut exprimer son potentiel de rendement et que l'introduction de un ou de quelques gènes de tolérance au VJNO produira une augmentation de rendement dans les sites favorables, ainsi qu'une stabilité plus grande du rendement dans les sites à déficit hydrique marqué. Ce gain de rendement sera spectaculaire dans le cas des sécheresses associées au VJNO, mais pourra être également présent dans le cas des sécheresses sans virus, car les gènes de tolérance au VJNO semblent avoir des effets bénéfiques sur la physiologie des céréales. Ces postulats nous imposent cependant de préciser le comportement de chaque génotype en fonction des ressources hydriques disponibles et ce, en l'absence de maladies qui gênent l'expression de ces gènes dits « positifs ».

La démarche engagée nous amène à distinguer deux types de sécheresse; la « sécheresse sans VJNO » et la « sécheresse avec VJNO » : dans laquelle la présence de virus accentue considérablement les effets du déficit hybrique (fig. 4). Plusieurs phénomènes peuvent être évoqués pour expliquer l'aggravation des effets de la sécheresse par le VJNO. En premier lieu, on sait que le VJNO endommage plus les racines que les parties aériennes de la céréale [5, 19] et qu'il affecte ainsi fortement l'absorption de l'eau.

En second lieu, le VJNO se multipliant dans les vaisseaux du phloème (Esau [12]) bloque partiellement le transport de la sève élaborée, transport déjà ralenti par le déficit hydrique. Enfin, le développement de la virose se traduit par une série de déséquilibres métaboliques et de dégradations structurelles aggravant ceux consécutifs à la sécheresse. En ce qui concerne les déséquilibres métaboliques, on peut citer l'accumulation de proline qui a été observée aussi bien dans le cas d'un déficit hydrique [2, 15, 21, 32] que dans le cas des viroses [24]. Les dégradations

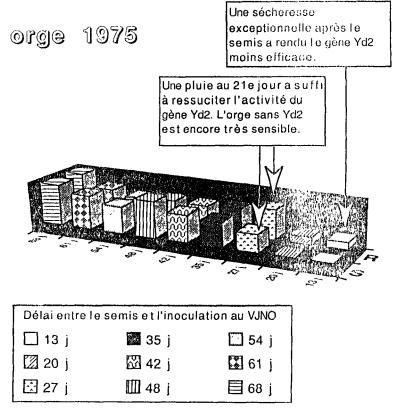


Figure 4. Pertes de rendement causées par le VJNO lors d'une année avec printemps très sec, sur des cultivars d'orge tolérants (R) et d'autres sensibles (S), en inoculant le virus à divers moments après le semis. Axe horizontal: 9 dates différentes d'inoculation virale; axe vertical: rendement. Sans virus, les rendements étaient égaux ou supérieurs à ceux de l'inoculation virale la plus tardive (68 jours).

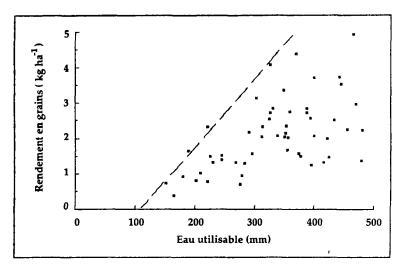


Figure 5. Relation linéaire du rendement maximal possible chez le blé, en fonction de l'eau utilisable pendant la saison de croissance (d'après French et Schultz, 1984). La disponibilité de l'eau se présente comme un plafond absolu, mais rarement atteint.

structurelles de l'appareil photosynthétique qui s'observent sous l'effet de la sécheresse et de l'infection par le VJNO, se traduisent par une réduction de la durée et du taux de photosynthèse.

La figure 5, extraite de French et Schultz [14], présente la relation linéaire théorique limitant le rendement maximum de cultivars tolérants selon un déficit hydrique donné. Cette relation considère la disponibilité de l'eau comme constituant un plafond absolu pour le rendement, mais ce plafond est rarement atteint parce que les cultivars sont malades, stressés par l'environnement, ou génétiquement inaptes à utiliser l'eau efficacement. Divers auteurs ont démontré que la tolérance à la sécheresse varie selon le type de sécheresse et selon le cultivar de céréale [17, 22].

La sélection pour un meilleur usage de l'eau se rapproche de la sélection pour un caractère quantitatif. Elle est analogue à une sélection pour rendement sous un ensemble d'environnements. Selon Buddenhagen (1983), c'est le domaine le plus complexe en amélioration des céréales. L'héritabilité de la résistance à la sécheresse est très faible et la répétabilité mauvaise, que cet auteur attribue en partie à des conditions expérimentales peu uniformes d'une saison à l'autre ou même à l'intérieur d'un site. Ce trait quantitatif dépend de nombreux caractères physiologiques, rapport tiges/racines, taux de photosynthèse, port des feuilles, surface foliaire, ouverture des stomates, réponse à la photopériode et à un déficit hydrique, tous ces caractères étant, selon Rasmusson et Gengenbach [28], très difficiles à manipuler individuellement. Ces auteurs concluent que les généticiens, les sélectionneurs et les physiologistes se doivent de mieux comprendre la relation entre le rendement et la productivité d'une culture. Nous nous joignons à Jensen (1983) qui résumait un important symposium sur la physiologie du rendement, en

concluant qu'une meilleure connaissance de ces relations complexes, incluant la relation entre la sécheresse et le rendement, est essentielle et constitue la seule façon certaine de pouvoir réaliser des progrès.

# La tolérance génétique des céréales au double stress : VJNO et sécheresse

Concernant l'étude de l'interaction du VJNO avec la sécheresse, nous préconisons, en nous basant sur les travaux de Rives [29], une méthodologie fondée sur la théorie de la sélection traditionnelle permettant d'isoler les effets du VJNO de ceux de la sécheresse. Récemment Comeau et Makkouk (1988) ont par ailleurs fait valoir le besoin de sélectionner les céréales simultanément contre le VJNO, la sécheresse et les maladies fongiques.

Simmonds propose d'étudier les effets du génotype, de l'environnement et de l'interaction G\*E sur le rendement sur la base des paramètres suivants [31] :

- a) un système d'évaluation qui reflète la réalité agricole;
- b) un plan de sélection et d'évaluation dans des environnements choisis et avec un bas niveau d'interventions culturales;
- c) la recherche d'une grande variabilité génétique, si on pense (et c'est le cas des céréales) que la sélection récente a orienté le matériel génétique en fonction d'une réponse aux intrants et non d'une adaptation au stress.

# Le système d'évaluation reflète la réalité agricole

On a déjà mentionné que les « sécheresses à virus » sont assez courantes, surtout quand on parle de sécheresse moyenne et non extrême. Une sécheresse extrême nuit à la reproduction des pucerons, qui ne peuvent migrer si l'air est à la fois très chaud et très sec, n'ayant pas assez de réserves d'eau pour survivre à de telles conditions. Cependant, un début de sécheresse cause, dans un délai de cinq jours une augmentation importante du pourcentage de pucerons ailés que la mobilité rend beaucoup plus dangereux que les aptères comme agents d'épidémie. Si les conditions nocturnes ou diurnes sont propices, les pucerons ailés émigrent en masse importante au hasard des vents, causant souvent des épidémies dans les cultures céréalières voisines.

Le tableau 1 montre que pour la tolérance génétique au VJNO, nous possédons un système d'évaluation qui reflète la réalité et qui permet facilement d'isoler les cultivars tolérants. En ce qui concerne la tolérance à la sécheresse, le réservoir génétique n'a pas été entièrement exploré; de nombreuses études complémentaires sont essentielles afin de mettre sur pied des cribles de sélection satisfaisants. Les figures 6a à 6e montrent que, pour cinq espèces de céréales, les rendements des cultivars sensibles au VJNO sont spécialement réduits lors d'infection virale, en année sèche.

Les stress occasionnés par des inoculations de virus avant le tallage inhibent la différenciation des fleurs des cultivars sensibles d'avoine, de blé tendre et de blé dur. En absence de virus, dans les mêmes champs expérimentaux de 1988, le

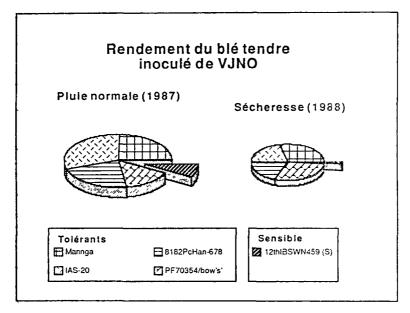


Figure 6a. Rendements relatifs de cultivars de blé tendre de printemps tolérants ou sensibles au VJNO, en présence et en absence d'un stress hydrique. La surface correspond au rendement. Notons que la lignée sensible au VJNO n'a pas du tout toléré le double stress : VJNO + sécheresse.

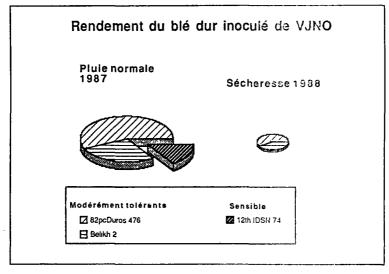


Figure 6b. Rendements relatifs de cultivars tolérants ou sensibles au VJNO chez le blé dur, en présence et en absence d'un stress hydrique. La surface correspond au rendement. Notons que la lignée sensible au VJNO n'a pas du tout toléré le double stress : VJNO + sécheresse (rendement nul).

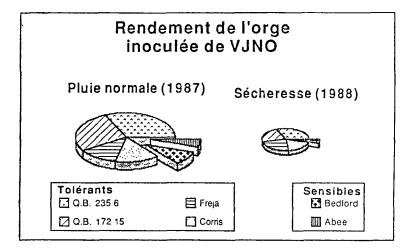


Figure 6c. Rendements relatifs de cultivars d'orge de printemps tolérants ou sensibles au VJNO, en présence et en absence d'un stress hydrique. La surface correspond au rendement. Notons que les lignées sensibles au VJNO n'ont pas toléré le double stress : VJNO + sécheresse.

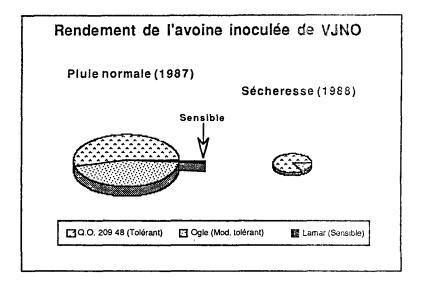


Figure 6d. Rendements relatifs de cultivars d'avoine tolérants ou sensibles au VJNO, en présence ou en absence d'un stress hydrique. La surface correspond au rendement. Notons que la lignée sensible au VJNO avait un rendement très faible avec pluie normale, et nul en cas de sécheresse.

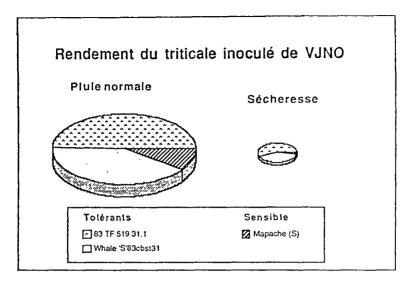


Figure 6e. Rendements relatifs de cultivars de triticale tolérants ou sensibles au VJNO, en présence et en absence d'un stress hydrique. La surface correspond au rendement. Notons que la lignée sensible au VJNO n'a pas du tout toléré le double stress: VJNO + sécheresse.

rendement des cultivars sensibles au VJNO n'était affecté que par la sécheresse. Les rendements étaient alors comparables à ceux des cultivars tolérants au VJNO en présence du double stress (données non publiées). Ces essais représentatifs laissent entrevoir que dans les conditions réelles du champ, les cultivars tolérants au VJNO peuvent offrir une meilleure stabilité du rendement.

En ce qui concerne enfin l'interaction VJNO\* sécheresse et sur la base des résultats préliminaires acquis (fig. 6), une étude comparative des effets morphophysiologiques de la sécheresse et du VJNO pourrait être conduite dans le cadre d'une expérimentation comportant quatre traitements: 1) témoin sans stress, 2) inoculation avec VJNO, 3) déficit hydrique et 4) inoculation avec VJNO + déficit hydrique.

Au cours de cette expérimentation, les mesures et analyses devraient porter principalement : a) sur certains paramètres physiologiques : rapport pondéral racines/parties aériennes, longueur de la racine principale, masse et volume des racines, finesse de l'enracinement, surface et indice foliaires, port des feuilles et b) sur certains paramètres physiologiques concernant l'état hydrique de la plante (potentiel hydrique foliaire, potentiel osmotique, conductance stomatique, accumulation d'osmoticum, proline, sucres solubles) et sur d'autres paramètres permettant d'apprécier les effets du VJNO, de la sécheresse et de leur interaction sur le métabolisme de la plante et en particulier sur les facteurs de photosynthèse (dosage de la chlorophylle a et b, mesures de la fluorescence chlorophylienne).

# Sélection et évaluation dans des environnements à faibles intrants

La recherche proposée devrait permettre de choisir les niveaux adéquats de VJNO et de sécheresse en régions sèches, où l'usage d'intrants coûteux n'est pas toujours justifié. Nous pensons toutefois que sélectionner pour la tolérance au VJNO conduit à sélectionner pour la tolérance à la sécheresse, de sorte que le degré de sécheresse doit être ajusté avec soin, et doit être proportionné au niveau de tolérance disponible, comme nous l'avons montré avec le VJNO.

L'évaluation de la tolérance au VJNO devra être mise sur pied dans une région semi-aride afin de répondre aux conditions du deuxième postulat de Simmonds afin d'isoler le facteur VJNO du facteur sécheresse. Au Québec, nous avons effectué une approche scientifique semblable pour étudier la survie du blé d'automne à l'hiver, en isolant l'effet du VJNO de ceux du froid et des moisissures nivéales. L'identification de ces facteurs permet de planifier les croisements de façon particulièrement efficace.

# La recherche d'une grande variabilité génétique

Après 18 ans de travaux en ce domaine, l'université Laval dispose sans doute de la meilleure banque de gènes au monde pour la résistance et la tolérance au VJNO. Les gènes de résistance qui inhibent la multiplication du virus sont rares, sauf chez l'orge et les élymes. La tolérance est plus courante que la résistance chez toutes les céréales de printemps. Cette tolérance peut dépendre de 2 à 4 gènes, selon les connaissances actuelles; il est quelquefois difficile de trancher entre gène de tolérance et gène de résistance, car une tolérance peut résulter d'une résistance partielle, par exemple une résistance exprimée seulement au niveau racinaire.

Chez des graminées vivaces apparentées au blé, on a trouvé une immunité complète au VJNO (on essaie présentement de transférer ce trait au blé), une résistance inattendue au puceron vecteur R. padi [33].

La sécheresse de 1988 qui a prévalu au Québec comme ailleurs en Amérique, a permis d'observer que la sélection au VJNO pouvait être efficace et utile lorsque d'autres stress étaient en cause. Le VJNO rend la plante plus sensible à la sécheresse et aux maladies fongiques; les dommages directs et indirects du VJNO furent donc extrêmes en 1988. Cependant, nous avons constaté que de nombreuses lignées, conservées comme témoins tolérants au virus, étaient visiblement moins affectées par la sécheresse. Avons-nous poursuivi, au fil des ans, une sélection à stress multiples sans le savoir? Pour répondre à cette question, il convient d'expérimenter un système de sélection avec stress multiples, pour vérifier si la sélection pour la tolérance génétique au VJNO permet d'isoler des génotypes qui tolèrent la sécheresse ou d'autres stress. La question présente un intérêt pratique, puisque la tolérance au virus est héritable et assez facile à sélectionner.

Trois facteurs sont essentiels au rendement en conditions sèches: l'aptitude à extraire l'eau du sol, l'aptitude à utiliser cette eau efficacement pour produire la biomasse, et enfin la capacité de translocation des produits de photosynthèse vers le grain. La sélection vis-à-vis du VJNO peut jouer indirectement sur deux de ces facteurs. En effet, les plantes à système racinaire faible sont éliminées par l'inoculation virale au stade végétatif. Comme le VJNO endommage le phloème

[12], la sélection au VJNO, préférablement avec inoculation virale à mi-saison, défavorise les plantes où la translocation est la moins efficace pour remplir le grain. Une sélection basée sur la qualité du grain devient dès lors possible.

La variabilité génétique accumulée permet d'entrevoir les plus grands espoirs de progrès à l'aide des méthodologies traditionnelles, mais également à l'aide de la biotechnologie qui offre de nouvelles méthodologies de manipulation de la variabilité génétique des céréales. L'usage du crible extraordinaire qu'est la sélection au VJNO devra être inclus dans l'arsenal de ces techniques nouvelles.

#### Références

- 1. Baker R J. (1968). Genotype\* Environment interaction variances in cereal yields in Western Canada. Car J Plant Sci; 48: 293-8.
- 2. Benlaribi M, Monneveux P. (1988). Etude comparée du comportement, en situation de déficit hydrique, de deux variétés algériennes de blé dur (*Triticum durum DESF*) adaptés à la sécheresse. CR Acad Agric Fr; 74: 73-83.
- 3. Bruehl GW (1961). Barley Yellow Dwarf, a virus disease of cereals and grasses. *Monogr Amer Phytopath Soc*; No. 1, 52 p.
- 4. Buddenhagen IW (1983). Breeding strategies for stress and disease resistance in developing countries. Ann Rev Phytopathol; 21: 385-409.
- 5. Catherall PL, Parry A. (1987). Effects of barley yellow dwarf virus on some varieties of Italian, hybrid and perennial ryegrasses and their implications for grass breeders. *Plant pathology*; 36: 148-53.
- Collin J. (1983). Evaluation comparative de 61 croisements de blé d'automne avec et sans inoculation artificielle de BYDV à l'automne. Thèse de maîtrise, université Laval, 133 p.
- 7. Collin J, Comeau A, St-Pierre CA. (1989). Analysis of genetic resistance to BYDV in triticale, with special reference to the proper choice of estimators of resistance. Proceedings of the workshop in CIMMYT, Udine, Italy (sous presse).
- 8. Comeau A. (1976). Elevage en masse et épandage sur le terrain des pucerons (*Aphidae*) vecteurs du virus du nanisme jaune de l'orge (BYDV). *Canadian Entomology*; 108: 373-8.
- 9. Comeau A, Jedlinski H. (1989). Successful breeding for Barley Yellow Dwarf Resistance or Tolerance: systematic approach related to other agronomic characters. Proceedings of the workshop CIMMYT, Udine, Italy (sous presse).
- 10. Comeau A, Makkouk KM. (1988). Recent progress in barley yellow dwarf virus research: interactions with diseases and other stresses. *Rachis*; 7:5-11.
- 11. Comeau A, St-Pierre CA. (1979-1988). Essais sur la résistance des céréales au virus de la jaunisse nanisante de l'orge (VJNO). Station de recherche de Ste-Foy et département de phytologie, rapports n° 1 à 10.
- 12. Esau K. (1957). Phloem degeneration in Gramineae affected by the barley yellow dwarf virus. *Amer J Bot*; 44: 245-51.
- 13. Frankel OH. (1947). The theory of plant breeding for yield. Heredity; 1: 109-20.
- 14. French RI, Schultz JE. (1984). Water use efficiency in a Mediterranean-type environment. Austral J Agr Research; 35: 743-75.

#### C.A. St-Pierre, Ph. Monneveux, A. Comeau

- 15. Hanson AD, Nelson CE. Everson EH. (1977). Evaluation of free proline accumulation as an index of drought resistance using two constructing barley cultivars. *Crop Science*; 17: 720-6.
- 16. Havener RD. (1984). Welcome to the Barley Yellow Dwarf Workshop. Proceedings of the workshop, CIMMYT, Mexico, pp. 14-5.
- 17. Hurd EA. (1969). A method of breeding for yield of wheat in semi-arid climates. Eyphytica; 18: 217-26.
- 18. Jensen NF. (1970). A diallel selective mating system for cereal breeding. *Crop Sci*; 10: 629-35.
- 19. Kainz M, Hendrix W. (1981). Responses of cereal roots to barley yellow dwarf virus infection in a mist culture. *Phytopathology*; 71: 229 (abstr).
- 20. Landry B, Comeau A, Minvielle F, St-Pierre CA. (1984). Genetic analysis of resistance to barley yellow dwarf virus in hybrids between *Avena sativa* cv Lamar and virus resistant lines of *Avena sterilis*. Crop Sci; 24: 337-41.
- 21. Monneveux P, Nemmar M. (1986). Contribution à l'étude de la résistance à la sécheresse chez le blé tendre (T. aestivum L.) et chez le blé dur (T. durum DESF): étude de l'accumulation de proline au cours du cycle de développement. Agronomie; 6: 583-90.
- 22. Naino J, St-Pierre CA, Denis J. (1980). L'adaptation des cultivars de sorgho-grain à différents régimes hydriques. Can J Plant Sci; 60: 233-40.
- 23. Nkongolo C. (1988). Transfert de la résistance génétique au virus de la jaunisse nanisante de l'orge (VJNO) du triticale au blé par hybridation interspécifique. Thèse de doctorat, université Laval.
- 24. Perdrizet E, Martin C. (1960). Etude comparée du métabolisme des acides aminées chez les pommes de terre saines et atteintes du virus de l'enroulement. CR Acad Sci; 252: 2765-8.
- Plourde Ariane (1988). Croisements interspécifiques entre le blé et les élymes. Thèse de doctorat, université Laval.
- 26. Plourde A, Comeau A, St-Pierre CA. (1988a). Intergeneric hybrids of Triticum aestivum X Leymus multicaulis. Genome; 32: 282-7.
- 27. Plourde A, Comeau A, St-Pierre CA. (1988b). Production and cytogenetics of hybrids of Triticum aestivum X Leymus innovatus. Theoretical and Applied Genetics; 78: 436-444.
- Rasmusson DC, Gengenbach BG. (1983). Genetics and use of physiological variability in crop breeding. in: ed. Tesar, M.B. Physiological basis for crop growth and development. ASA.
- 29. Rives M. (1984). L'amélioration des plantes. La Recherche; 155: 752-66.
- 30. Rochow WF. (1970). Barley yellow dwarf virus. Commonwealth Mycological Institute, 4 p.
- 31. Simmonds NW. (1981). Genotype (G), environment (E) and GE components of crop yields. *Expl Agric*; 17: 355-62.
- 32. Singh TN, Paleg LG, Aspinal D. (1983). Stress metabolism. III Variation in response to water deficit in the barley plant. Aust J Biol Sci; 26: 65-76.
- 33. Tremblay C, Cloutier C, Comeau A. (1989). Resistance to the bird-cherry oat aphid, *Rhopalosiphum padi* L. (Homoptera: *Aphididae*), in perennial Gramineae and wheat × perennial Gramineae hybrids. *Environ Entomol*; 18 (6): 338-48.
- Wallace DH, Ozbun JL, Munger HM. (1972). Physiological genetics of crop yield. Adv Agron; 24: 97-146.

L'amélioration des plantes pour l'adaptation aux milieux arides. Ed. AUPELF-UREF. John Libbey Eurotext. Paris © 1991, pp. 51-63.

5

# Approche de l'amélioration génétique de l'adaptation à la sécheresse. Cas de l'arachide au Sénégal

J.L. KHALFAOUI

Centre d'étude régional pour l'amélioration de l'adaptation à la sécheresse (CERAAS), ISRA-CNRA, BP 53 Bambey, Sénégal

# Résumé

Une approche de l'amélioration génétique de l'adaptation à la sécheresse des espèces cultivées est présentée. Elle consiste en un diagnostique bioclimatologique et physiologique permettant l'identification d'un idéotype adaptatif et agronomique dont la génétique est précisée et qui est recherché à l'aide de méthodes de sélection adaptées. Cette approche est illustrée par le cas de l'arachide (Arachis hypogaea L.).

#### Introduction

Depuis une quinzaine d'années, une détérioration persistante de la pluviométrie se manifeste dans tout le Sahel. Elle se traduit au Sénégal par une baisse de la pluviométrie annuelle de l'ordre de 200 mm sur l'ensemble du pays.

Dans la zone semi-aride, les conséquences de cette sécheresse sur la production agricole sont extrêmement graves. L'alimentation hydrique est devenue de très loin, le facteur limitant. En ce qui concerne l'arachide, on estime à environ 50 % la perte d'espérance de rendement occasionnée chez les variétés vulgarisées.

#### J.L. Khalfaoui

Dans le cadre d'une lutte intégrée, les atouts de l'amélioration génétique : progrès de la physiologie dans la compréhension des mécanismes adaptatifs, large variabilité génétique inexploitée et recours à des méthodes de sélection judicieuses, doivent lui permettre de jouer un rôle de première importance en créant des variétés mieux adaptées aux nouvelles conditions de sécheresse.

L'objectif du programme de recherche présenté ici, est de créer de nouvelles variétés d'arachide mieux adaptées aux contraintes hydriques de la zone semiaride. Ce programme a été initié en 1983 par l'Institut Sénégalais de Recherches Agricoles avec l'appui du CIRAD et le financement de la Commission des Communautés Européennes. Il est mené par une équipe pluridisciplinaire associant étroitement sélectionneur, physiologiste et bioclimatologiste.

#### Méthodes

Lors de la mise en place du programme, un examen des programmes de sélection menés de par le monde sur les principales cultures des zones semi-arides, nous a montré qu'un très faible nombre d'entre eux utilisent l'outil physiologique de manière intégrée. Nous avons donc dégagé une approche génétique et physiologique de l'amélioration génétique en zone semi-aride qui intègre la bioclimatologie. Elle a été appliquée à la zone sèche du Sénégal dans le cas de l'arachide et peut être généralisée à toutes les cultures et conditions de sécheresse.

Cette approche consiste en un diagnostic bioclimatologique et physiologique qui permet de mettre en évidence un certain nombre de caractères adaptatifs capables de répondre aux conditions données de sécheresse sévissant dans la zone. Ces caractères constituent, en complément des caractères agronomiques et technologiques, un idéotype dont la génétique est précisée et qui est recherché à l'aide de méthodes de sélection adaptées [4].

#### Travaux et résultats

Une étude a été menée sur les données pluviométriques de dix localités représentatives de la zone sèche au Sénégal qui s'étend au nord de la Gambie. A partir des moyennes pluviométriques, elle montre (fig. 1) qu'une détérioration très nette s'est produite depuis 1970. Elle se traduit par une baisse de 178 mm de la pluviométrie moyenne annuelle, ce qui correspond à 30 % de perte. La comparaison statistique de la période humide et de la période sèche indique que les moyennes sont différentes de façon hautement significative. En revanche les variances ne sont pas significativement différentes. Ceci indique que la variabilité interannuelle n'a pas été modifiée au cours des deux périodes, donc que la sécheresse à partir de 1970 est due non pas à des années exceptionnellement sèches mais bien à une détérioration générale de la pluviosité.

L'étude bioclimatologique a également montré que cette détérioration pluviométrique est due à deux causes : premièrement, la réduction de la longueur de la

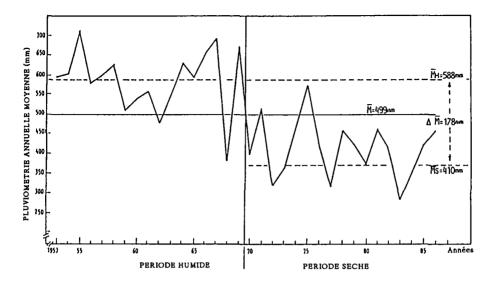


Figure 1. Moyennes des pluviométries annuelles de dix localités représentatives de la zone semi-aride du Sénégal en fonction des années 1953 à 1986.

saison des pluies; deuxièmement, l'apparition de périodes d'absence de précipitation de plus en plus longues et fréquentes, au cours de l'hivernage.

La réduction de la durée de la saison des pluies nous a conduit à réviser la longueur des cycles à obtenir par sélection. Une simulation a été réalisée à partir des données pluviométriques d'une quinzaine de localités, afin de déterminer la durée du cycle qui aurait pu être satisfaite chaque année de la période sèche. Ceci a permis de dresser la carte des longueurs de cycle (satisfait) dans au moins 80 % des années de la période sèche (fig. 2) et ainsi de préciser l'objectif de sélection pour ce caractère.

L'importance relative de chacune des deux composantes de la sécheresse, réduction de la durée de la saison des pluies et périodes de sécheresse, est variable suivant la région. Elle impose une approche régionalisée de l'amélioration génétique.

# Région Nord

#### Diagnostic bioclimatologique et physiologique

Si la composante « réduction de la durée de la saison des pluies » a touché toutes les régions, c'est dans le Nord où elle a été le plus préjudiciable aux cultures, notamment à l'arachide en rendant inadaptées les variétés vulgarisées du fait de leur cycle devenu trop long.

Le cas de la ville de Louga, située dans cette région, illustre ce phénomène. Le graphique présentant la durée potentielle du cycle en fonction des années de 1953 à 1986 (fig. 3), montre qu'à partir de 1970 se produit une très nette réduction de

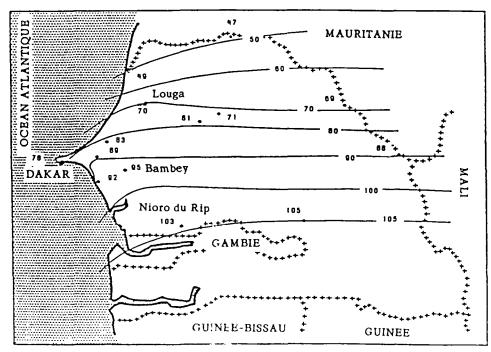


Figure 2. Carte des longueurs de cycle satisfaites dans au moins 80 % des années de la période 1970-1986 dans la zone semi-aride du Sénégal (jours).

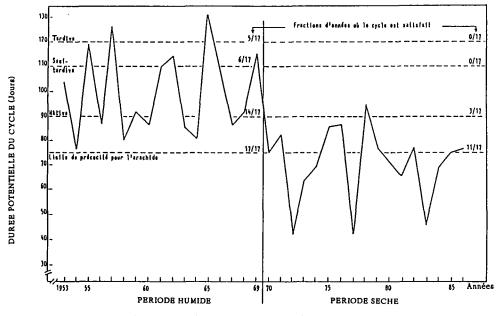


Figure 3. Durée potentielle du cycle à Louga en fonction des années 1953 à 1986.

la durée potentielle du cycle. Une variété hative de 90 jours, qui terminait son cycle 14 années sur 17 avant 1970, n'est plus adaptée que 3 années sur 17 après 1970.

De plus, des pluies de fin d'hivernage sont à craindre car elles sont susceptibles de provoquer la regermination en terre d'une partie des graines mûres, provoquant des pertes évaluées jusqu'à 15 % de la production.

Pour la région Nord, l'objectif de sélection de l'arachide consiste donc à créer une variété à cycle très court et présentant une dormance des graines.

## Etude génétique

Une étude génétique a été entreprise à partir des générations parentales,  $F_1$ ,  $F_2$ ,  $F_3$  et rétro-croisements d'un croisement entre le géniteur de précocité extrême, la variété Chico ayant 75 jours de cycle, et une des deux variétés précoces vulgarisées dans le Nord, la variété 73-30 ayant 95 jours de cycle et la particularité d'être la seule variété hative qui soit dormante. L'étude des effets génétiques a été faite à l'aide des modèles de Mather et Jinks [5] qui sont adaptés aux caractères de complexité génétique limitée.

Cette étude montre que la dormance est conditionnée par des effets d'additivité, de dominance et d'épistasie limitée de type digénique. Les estimations moyennes d'héritabilités indiquent qu'une sélection de type généalogique en faveur de la dormance devrait être efficace. C'est une information importante qui montre que la dormance devrait pouvoir être conférée à d'autres variétés hatives que la 73-30 en utilisant cette dernière comme géniteur, ainsi plusieurs programmes dans ce sens ont débuté à Bambey.

Quant à la précocité de maturité des gousses à la récolte, les effets génétiques qui la commandent, se limitent essentiellement à des effets simples d'additivité, secondairement de dominance et sans intervention d'épistasie. La précocité de maturité à la récolte semble génétiquement indépendante des composantes de la précocité de mise à floraison, dont les hérédités sont plus complexes et qui ne peuvent constituer des tests précoces de la maturité à la récolte. A partir des formules d'estimation de Mather et Jinks [5] et de Castle [1], le nombre de facteurs génétiques responsables de la différence de précocité à la récolte entre Chico et 73-30 a été évalué entre 2 et 3. Sans s'attacher de manière stricte à ces valeurs, du fait de l'aspect restrictif des hypothèses de base d'utilisation des formules, elles s'accordent pour indiquer un nombre de facteurs génétiques limité, responsables de la différence de précocité entre les deux géniteurs.

Malgré cette simplicité génétique, l'estimation des héritabilités donne des valeurs assez faibles du fait d'un effet environnemental important dans l'expression phénotypique.

# Programme de sélection

Le faible nombre de facteurs génétiques responsables de la différence de maturité défini à la récolte entre le cultivar agronomiquement intéressant, 73-30, et le géniteur de précocité, Chico, conduit à adopter une méthode de sélection par rétro-croisements plutôt qu'une méthode de type généalogique. L'objectif est de transférer les allèles de précocité à la récolte de Chico aux deux variétés vulgarisées, 73-30 et 55-437. Nous en sommes actuellement respectivement au 3° et 2° rétrocroisements. Le programme avec 73-30 devrait permettre si la dormance

est conservée à l'issue des rétro-croisements, d'obtenir une variété très hative dormante. De plus, afin de limiter les risques de perte des allèles de Chico au cours des rétro-croisements successifs, une sélection généalogique est menée à partir de la  $F_2$  du  $2^e$  rétro-croisement et des suivants.

# Région Centre

#### Diagnostics bioclimatique et physiologique

Dans la région Centre, une réduction de la durée de la saison des pluies s'est également manifestée durant la période sèche mais sans toutefois rendre inadaptée la longueur des cycles des variétés qui y sont vulgarisées. En revanche, c'est la deuxième composante de la sécheresse, à savoir l'apparition de périodes de sécheresse en cours de culture, qui a été prépondérante. Elle explique les chutes de rendement qui sont intervenues dans cette région. En effet, l'examen d'un exemple type, celui de la pluviométrie de Bambey au cours de l'hivernage 1984 (fig. 4) montre que la longueur de l'hivernage a été correcte puisqu'elle aurait permis à une variété tardive de réaliser son cycle. En revanche, deux périodes de sécheresse ont eu lieu en cours de culture. La première de 15 jours, entre le 45° et 60° jour, est survenue durant la fructification, phase de développement de l'arachide la plus sensible vis-à-vis de la production. La deuxième, de 13 jours entre le 68° et 71° jour, s'est produite durant la maturation des gousses formées et le remplissage des gousses correspondants aux dernières fleurs utiles.

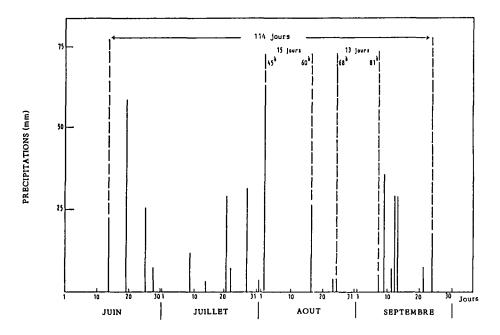


Figure 4. Pluviométrie de l'hivernage 1984 à Bambey.

Face à ce problème de stress hydriques en cours de cycle, la solution qu'offre la sélection est de créer des génotypes présentant de bonnes expressions des caractères physiologiques d'adaptation à la sécheresse leur permettant de supporter ces périodes de sécheresse, et possédant d'autre part de bonnes qualités agronomiques et technologiques.

Jusqu'à présent, quelle que soit l'espèce, la plupart des variétés adaptées à la sécheresse ont été créées par sélection basée sur la productivité en conditions naturelles comportant des périodes de stress hydrique, les génotypes les plus aptes à supporter ces périodes étant par conséquent les plus productifs. Ce type de sélection peut être qualifié d'indirecte puisqu'il n'évalue pas directement le degré d'adaptation proprement dite des individus au niveau des caractères physiologiques. L'amélioration de l'adaptation à la sécheresse basée sur la productivité présente de sérieuses limitations qui tiennent essentiellement au manque de constance, à la fois quantitative et qualitative, de la pression de sélection exercée d'une génération à l'autre. Ce manque de constance de la pression de sélection impose un progrès génétique aléatoire et lent qui tend à plafonner. Or, les progrès de la physiologie dans la compréhension des mécanismes physiologiques impliqués dans l'adaptation à la sécheresse des espèces cultivées et notamment de l'arachide. offrent de nouvelles perspectives à l'amélioration génétique de ce caractère. En effet, la sélection porte sur des mécanismes caractéristiques directement impliqués et permet une meilleure constance de la pression de sélection exercée tout au long du programme d'amélioration.

Dans notre cas particulier, l'idéotype d'adaptation à la sécheresse a été défini de manière à être, dans une première phase du programme, relativement simple d'un point de vue physiologique. Cet idéotype a été basé sur quatre caractéristiques liées à une adaptation à la sécheresse :

- 1) la vitesse de croissance racinaire;
- 2) la résistance protoplasmique;
- 3) l'optimisation de la transpiration stomatique qui pose un problème du fait de l'opposition entre le contrôle des pertes en eau par transpiration et l'assimilation du CO<sub>2</sub>;
- 4) les réserves en glucides dans les racines.

# Etude génétique

Un ensemble de croisements en diallèles a été réalisé afin de préciser chez l'arachide, l'hérédité des caractères physiologiques d'adaptation suivis. Les modèles génétiques utilisés de décomposition des effets génétiques en F<sub>1</sub> sont les analyses II et III de Gardner et Eberhart [2]. Elles sont des extensions du Modèle I méthode 4 de Griffing [3] et constituent une approche plus complète et sans confusion des effets génétiques.

#### Développement racinaire

En ce qui concerne le comportement racinaire, un demi-diallèle  $6 \times 6$  a été étudié en aéroponique, c'est-à-dire par culture sur brouillard nutritif projeté sur les racines. Cette technique permet un suivi régulier et aisé du développement racinaire. Un certain nombre de paramètres du développement aérien ont été

mesurés afin d'étudier d'éventuelles liaisons entre le développement des deux parties de la plante.

L'étude a montré que les variétés étudiées présentent une large variabilité génétique pour la plupart des paramètres de masse et de longueur des développements racinaires et aériens. Il existe une forte corrélation entre ces deux derniers ce qui va géner l'obtention d'un idéotype d'adaptation à la sécheresse présentant à la fois un système racinaire important capable de bien exploiter l'eau disponible dans le sol et un système aérien limité, afin de réduire les pertes en eau par transpiration. Une deuxième corrélation relie la tardiveté, à la profondeur d'enracinement et va également géner l'obtention de l'idéotype pour la précocité. Dans ces deux cas, les pressions de sélection devront être exercées sur chacune des composantes, opposées à l'effet de la corrélation. De même, pour la profondeur d'enracinement et le volume racinaire qui ne présentent pas de corrélation. En revanche, une corrélation se manifeste qui va rendre possible la sélection de ce caractère. Elle relie la profondeur d'enracinement aux premiers stades de développement à celle aux stades ultérieurs et permet ainsi l'adoption d'un test précoce.

Du point de vue de l'hérédité des paramètres de développement racinaire, elle présente des effets prépondérant d'aptitude générale à la combinaison. L'aptitude spécifique à la combinaison se manifeste également, ce qui traduit l'intervention d'effets de dominance et d'épistasie, confirmés par de nets effets d'hétérosis. Ces effets génétiques non-additifs bien qu'effectifs semblent moins marqués dans le cas de paramètres de développement aérien. De plus, il apparait que pour le développement des deux parties de la plante, les effets génétiques non-additifs semblent plus marqués aux stades juvéniles qu'aux stades ultérieurs.

Une étude en plein-sol a été menée sur les variétés parentales du diallèle afin de vérifier la validité en plein-sol des résultats obtenus en aéroponie. Elle est basée sur l'injection localisée en profondeur dans le sol à l'aide d'un coutre, d'un herbicide capable de provoquer la mort des pieds d'arachide. La comparaison de la rapidité de mortalité des différents génotypes indique qu'ils présentent une large variabilité génétique pour la rapidité des croissances conjuguées du pivot et des racines secondaires. De plus, les hiérarchies obtenues en aéroponie et en plein-sol présentent une bonne corrélation de rang, ce qui rend valide les indications obtenues en aéroponie. Seule la place de la variété 73-30 diffère. La technique d'étude par injection d'herbicide s'est révélée un excellent test de comparaison de lignées pour leur comportement racinaire.

### Transpiration

Le comportement vis-à-vis de la transpiration est étudié grâce au suivi, en fonction du temps, de la baisse de la Contenance Relative en Eau (CRE) de feuilles détachées. L'allure des courbes obtenues est présentée à la figure 5.

La comparaison des génotypes indique qu'une variabilité génétique importante se manifeste pour la rapidité du contrôle stomatique en fonction du déficit hydrique. Les génotypes ferment plus ou moins tôt leurs stomates. L'hérédité de ce contrôle, étudiée à partir d'un demi-diallèle  $5 \times 5$ , est à la fois déterminée par des effets d'aptitude générale et d'aptitude spécifique à la combinaison, sans prépondérance de l'une ou de l'autre.

Le rapprochement du comportement racinaire et de la transpiration a permis de mettre en évidence chez l'arachide, deux idéotypes d'adaptation en fonction du

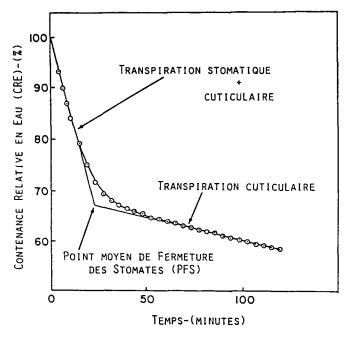


Figure 5. Transpiration de feuilles détachées : évolution de la contenance relative en eau (CRE) en fonction du temps.

type de sécheresse rencontré (fig. 6). Le premier idéotype, correspondant à la variété 73-30, est destiné à la Région Nord où la réserve utile en eau dans le sol (RUE), est limitée. Cette variété présente un système racinaire moyennement développé et un contrôle stomatique très rapide lors de l'installation d'un déficit hydrique. Ceci lui permet d'économiser l'eau disponible. La fermeture rapide de ses stomates limite sa capacité d'assimilation du CO<sub>2</sub> donc son potentiel de production, mais dans une région où celle-ci ne pourrait presque jamais s'exprimer, l'accent doit être mis sur la sécurisation de la production. A l'inverse, l'autre idéotype d'adaptation, correspondant à la variété 57-422, a un système racinaire très développé, qui lui assure l'approvisionnement de l'eau disponible en profondeur en cas de sécheresse, et une fermeture assez tardive de ses stomates, qui lui permet le maintien de son activité chlorophyllienne et donc un potentiel de production supérieur. Cet idéotype correspond aux conditions de sécheresse de la région Centre où la disponibilité en eau en profondeur, permet de rechercher des niveaux de production supérieurs.

# Résistance protoplasmique

La résistance protoplasmique est évaluée à partir de l'application d'un choc thermique sur des disques foliaires. Un demi-diallèle  $7 \times 7$  a été conduit indiquant un contrôle génétique essentiellement déterminé par l'aptitude générale à la combinaison. L'intervention des effets de dominance et d'épistasie est limitée

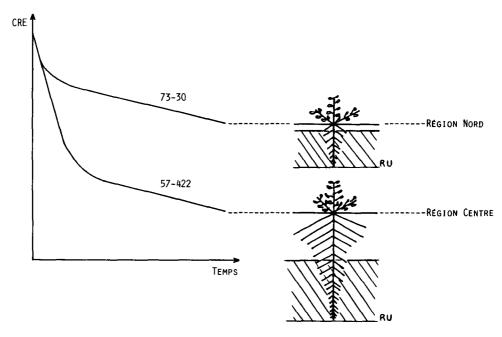


Figure 6. Idéotype de transpiration et de développement racinaire pour chaque région.

comme l'indiquent des effets d'aptitude spécifique à la combinaison et d'hétérosis faibles.

Pour la résistance protoplasmique concernant les membranes vacuolaires et cytoplasmiques mais également les membranes chloroplastiques et mitochondriales, une étude préliminaire destinée à mettre en évidence un éventuel effet maternel, a été menée. La comparaison des  $F_2$  réciproques de 2 hybrides doubles a été réalisée (fig. 7). Elle montre, pour l'un d'eux, une différence significative entre les moyennes des croisements réciproques qui en première analyse peut être attribuée à l'intervention d'une hérédité cytoplasmique pour la résistance protoplasmique.

#### Réserves en amidon

En ce qui concerne les réserves en amidon dans les racines, aucune variabilité génétique n'a pu être révélée, ce qui nous a amené à supprimer ce critère de l'idéotype initialement défini. Il semble que chez l'arachide, les mécanismes liés aux réserves glucidiques soient d'une tout autre nature.

Cette étude génétique a permis de vérifier l'existence d'une variabilité génétique chez l'arachide pour un certain nombre de caractères adaptatifs, de préciser leur hérédité, d'identifier certains géniteurs intéressants, de préciser l'idéotype pour chacun des (caractères) d'adaptation en fonction des facteurs de sécheresse, enfin de révéler certaines corrélations qui doivent selon les cas faciliter ou géner la conduite de la sélection.

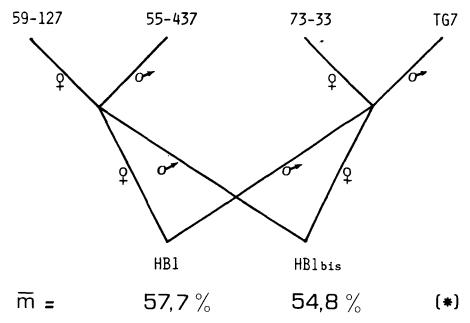


Figure 7. Hybride double : résistances protoplasmiques en fonction du cytoplasme.

#### Programme de sélection

Le caractère extrêmement polygénique de la sélection recherchée nous a conduit à opter pour une méthode de sélection récurrente en préalable à l'utilisation des méthodes de création variétale de type généalogique. En effet, ces dernières présentent des limitations qui tiennent essentiellement à la restriction très rapide de la variabilité génétique de départ et à la fixation également très rapide des balances internes.

La structure génétique des variétés d'arachide vulgarisées étant des lignées pures, c'est l'amélioration de la valeur variétale en autofécondation de la population travaillée qui est recherchée. De plus, la prépondérance de l'aptitude générale à la combinaison, donc des effets d'additivité, a été constatée chez les caractères adaptatifs étudiés. Pour les caractères agronomiques dont la production du même type d'hérédité a été rapportée dans la littérature. En raison de la recherche d'une bonne valeur variétale en autofécondation et d'une hérédité à effets additifs prépondérants, c'est une sélection sur test en autofécondation qui est menée.

Une population de départ a été créée par intercroisement en pyramide de huit variétés choisies (Tableau I): premièrement pour leur bon comportement vis-à-vis des caractères d'adaptation à la sécheresse et leur bonne production sur le terrain en condition de déficit hydrique. Deuxièmement pour la distance génétique importante qui doit exister entre elles.

Deux problèmes majeurs se posent pour la mise en place d'un programme d'amélioration de l'adaptation à la sécheresse. D'une part, le fait que nombre de

**Tableau I.** Programme Centre-Sénégal : sélection récurrente sur test S1. Variétés génitrices de la sélection récurrente.

Variétés	Cycles (jours)	Variétés botaniques	Origines géographiques
47-16	120	Virginia	Inde
59-127	120	Virginia	Burkina
57-422	105/110	Virginia	USA
73-33	105	Virginia	USA et Australie
55-437	90	Spanish	Argentine
TS-32-1	90	Spanish	Burkina Faso
TG7	90	Spanish	Inde (mutagénèse)
64G 195	90	Spanish	Afrique du Sud

caractères d'adaptation à la sécheresse présentent un coût physiologique et sans doute génétique vis-à-vis de la production. D'autre part, le fait que le niveau optimal d'alimentation hydrique soit différent pour l'expression des caractères adaptables et pour celle des caractères de production. Les caractères adaptatifs, notamment ceux inductifs, nécessitent l'intervention d'une sécheresse marquée, alors que pour la région concernée les caractères de production ne pourront s'exprimer à leur niveau optimum qu'en absence d'une sécheresse sévère.

La solution retenue consiste à sélectionner les meilleurs génotypes selon deux processus qui se déroulent en parallèle. Le premier consiste en un essai sur le terrain avec irrigation d'appoint en cas de sécheresse marquée. Il permet la sélection des caractères agronomiques. Le deuxième processus comprend les tests des caractères adaptatifs en conditions hydriques contrôlées en serre et en laboratoire. Les descendants des meilleurs individus des meilleures familles  $F_2$  de l'essai agronomique sont intercroisés avec les meilleurs individus des meilleures familles  $F_2$  aux tests physiologiques afin de créer la population améliorée suivante. Cette population est le point de départ d'un nouveau cycle de sélection récurrente et également d'une création variétale par sélection généalogique en conditions naturelles strictes. Une comparaison entre la première population améliorée et la population de départ a permis d'évaluer à 13 % le gain de sélection obtenu pour la production.

Ce résultat montre l'efficacité de la sélection menée pour la productivité et met en évidence le potentiel de progrès important de l'arachide lorsque la base génétique travaillée est élargie, alors que la plupart du temps, comme d'ailleurs chez les autres espèces, la sélection est menée à partir de croisements simples.

#### Conclusion

Les perspectives de ce programme de sélection sont de deux ordres. En premier lieu, la sélection telle qu'elle a été présentée se poursuit au Sénégal et a maintenant une extension vers d'autres pays producteurs d'arachide, également touchés par la sécheresse. Il s'agit : du Burkina, du Brésil et du Botswana. Ce dernier est un

partenaire ancien du programme et permet d'en réduire la durée, puisque grâce à sa situation géographique australe, il réalise depuis le début, les contre-saisons. Ces trois pays ont débuté une sélection généalogique similaire à celle menée au Sénégal à partir de sous-population extraites des populations améliorées par sélection recurrente.

La deuxième perspective dépasse le cadre de l'arachide puisqu'un centre de recherches inter-Etats a été créé au CNRA de Bambey. Son rôle est de fournir aux physiologistes et aux sélectionneurs des zones semi-arides, les moyens techniques et scientifiques leur permettant d'étudier le comportement physiologique et de conduire des programmes d'amélioration de l'adaptation à la sécheresse sur les principales espèces cultivées. Il s'agit du Centre d'étude régionale pour l'amélioration de l'adaptation à la sécheresse (CERAAS).

# Références

- 1. Castle WIE. (1921). An improved method of estimating the number of factors concerned in cases of blending inheritance. *Science*, NS; 54: 233.
- 2. gardner CO. Eberhart SA. (1966). Analysis and interpretation of the variety cross diallel and related population. *Biometrics*; 22: 435-52.
- 3. Griffing B. (1956). Concept of general and specific ability in relation to diallel crossing systems. Aust J of Bio Sci; 9: 463-93.
- 4. Khalfaoui J-L. (1988). Approche de l'amélioration génétique de l'adaptation à la sécheresse des espèces cultivées en zones semi-arides. Application au cas de l'arachide (Arichis Hypogaea L.) destinée à la région sèche du Sénégal. Thèse de Docteur en Science. Université Paris-Sud. Centre d'Orsay.
- 5. Mather K. Jinks JL. (1982). Biometrical genetics. Chapman and Hall Ltd, London, 396 p.

6

# Stratégie d'implantation d'un système d'espèces adaptées aux conditions d'aridité du pourtour méditerranéen

P. DUTUIT, Y. POURRAT, V.L. DODEMAN

Groupe des semences artificielles, université Paris-Sud, faculté de pharmacie, laboratoire de botanique, Tour E1-2nd, 92290 Chatenay-Malabry, France

# Résumé

Les ressources alimentaires des zones arides et semi-arides du pourtour méditerranéen diminuent continuellement. Il est urgent de lutter contre cette désertification par la réimplantation d'espèces adaptées à ces régions.

Notre stratégie de repeuplement considère ces zones arides et semi-arides comme un ensemble composé de différentes formes d'agricultures : l'oasis ou le verger (palmier dattier, olivier, amandier, pistachier), l'élevage sur des parcours steppiques à base de végétation naturelle (Atriplex) auxquelles nous avons ajouté une culture à haut rendement, résistant à la sécheresse (jojoba).

Notre démarche allie les connaissances écologiques et biotechnologiques. Il nous semble que seul un projet embrassant à la fois plusieurs espèces et plusieurs techniques, fondé sur des objectifs sociaux et commerciaux, sera efficace dans ce domaine du repeuplement des zones arides et semi-arides.

#### Introduction

Les ressources alimentaires des zones arides, en particulier les surfaces destinées au pâturage, diminuent continuellement. Ce phénomène résulte d'une chaîne de facteurs indissociables : accroissement de la population, augmentation consécutive des besoins alimentaires à court terme, mise en culture incontrôlée des zones à utilisation jusque-là pastorale et corrélativement appauvrissement et perte du sol par érosion, déplacement des animaux sur des régions voisines et dégradation de la couverture végétale par le surpâturage. A cette dégradation concourent également les intermittences de périodes de sécheresse extrême, comme cela a été le cas au Sahel depuis une vingtaine d'années.

Ces processus de désertification ne touchent pas que les pays situés au sud de la Méditerranée; de grandes étendues au sud de l'Europe n'y échappent pas (sud et sud-est de l'Espagne, sud du Portugal entre autres).

Ces conditions écologiques des zones arides et semi-arides imposent une dynamique de plus en plus intense en matière de lutte contre la désertification. Le travail de notre groupe a été de trouver des solutions de clonage, de multiplication et de réimplantation d'espèces intéressant ces régions.

Nous avons considéré les zones arides et semi-arides comme un ensemble composé de différents types d'agriculture qui se complémentent : l'agriculture d'oasis intensive, à haute utilisation de main-d'œuvre (équivalent du verger dans les régions du sud de l'Europe), base de la sédentarisation de la population dans les zones désertiques au sud de la Méditerranée et l'élevage sur de vastes zones de parcours steppiques, à base de végétation naturelle. Nous avons voulu intégrer un troisième élément, sous la forme de cultures à haut rendement qui résistent à la sécheresse, nécessitent peu de technicité, occupent de la main-d'œuvre et peuvent s'installer dans les zones semi-désertiques en dehors des oasis ou des vergers. Dans les régions du sud de l'Europe, ces cultures peuvent s'implanter sur des régions actuellement inexploitées depuis la disparition progressive du pâturage.

# Stratégie

Notre stratégie de repeuplement des zones arides et semi-arides comprend des espèces telles que le *Phoenix dactylifera*, principale ressource économique de l'agriculture des oasis, l'*Atriplex halimus*, plante fourragère steppique, le jojoba (*Simmondsia chinensis*), plante introduite à culture intensive qui pourrait présenter un grand intérêt économique de part et d'autre de la Méditerranée, et des espèces fruitières : l'amandier, le pistachier et l'olivier.

Pour permettre cette approche globale de la désertification, il a semblé nécessaire d'associer à notre groupe des chercheurs aux compétences variées couvrant les biotechnologies végétales, le comportement des plantes vis-à-vis des agressions du milieu et l'écologie du terrain.

Pour chaque espèce choisie, nous avons proposé:

- une approche écologique
- mise au point de l'état actuel des connaissances avec évaluation des possibilités d'implantation ou de réimplantation et des perspectives économiques;

# Espèces adaptées aux conditions d'aridité du pourtour méditerrannéen

- relevé des caractéristiques du milieu pour chaque région (climatiques, édaphiques, écologiques, etc.);
- sélection in situ des plantes performantes (plantes hautement productives, résistantes aux agressions du milieu, etc.).
  - une approche biotechnologique
  - clonage in vitro et constitution de lignées;
- apport de plus-values aux types présélectionnés par transformation ou hybridation somatique;
  - mise au point de semences artificielles;
  - étude du comportement des plantes obtenues en milieu contrôlé;
- retour sur le terrain des plantes améliorées et recherche des meilleurs systèmes de culture.

# Justification du choix des espèces

# L'Atriplex halimus

# Importance écologique

Dans les régions méditerranéennes arides et semi-arides, le problème de la désertification se manifeste principalement par le recul de zones boisées (soit par exploitation non contrôlée, soit par incendie ou autres ravages) et par la perte de végétation de zones steppiques à vocation pastorale. Le repeuplement à base de buissons fourragers constitue une excellente solution. En effet, ces plantes possèdent un système racinaire très développé qui leur permet d'utiliser les réserves d'eau du sol de façon exhaustive et de former un réseau dense susceptible d'agréger le sol et de le rendre résistant à l'érosion [6].

En outre, les formations à base de buissons fourragers forment une bonne couverture végétale à feuillage dense qui protège le sol des agressions climatiques, sources d'érosion (pluie, vent, grêle, etc.). Ils ont une croissance rapide, nécessitant peu de soins dans les premiers stades de développement, et leur exploitation peut donc commencer rapidement.

Dans ce contexte, *l'Atriplex halimus* joue un rôle très important dans le repeuplement des régions arides et semi-arides méditerranéennes.

# Importance économique

L'Atriplex halimus est utilisé fondamentalement comme plante fourragère. Son feuillage persistant, riche en protéines, est très apprécié durant la longue période de sécheresse estivale alors que les espèces herbacées ont disparu. Une bonne formation d'Atriplex halimus peut produire jusqu'à cinq tonnes/hectare de matière sèche par an sur des sols dégradés ou salins inutilisables pour d'autres cultures.

Il est aussi utilisé comme plante médicinale dans la pharmacopée traditionnelle.

#### Le palmier dattier

# Importance écologique

Le palmier dattier est caractéristique de la flore de nombreuses régions chaudes et désertiques de tous les continents. On peut néanmoins le trouver dans les régions chaudes tempérées.

Dans les oasis, son couvert végétal a toujours permis la culture de plantes vivrières, qu'elles soient fruitières, maraichères ou céréalières.

Quoique originaire des régions désertiques, le palmier dattier a besoin de beaucoup d'eau mais c'est sa résistance à des sécheresses durables (plusieurs années) qui en fait ce symbole vivant du désert.

Un champignon du sol, le *Fusarium oxysporum f. albedinis*, provoque chez le dattier une fusariose (le bayoud) qui entraîne sa mort; cette attaque cryptogamique a fait disparaître les palmiers dattiers de nombreuses oasis. Le phénomène de désertification s'est ainsi accentué par un déséquilibre profond des écosystèmes de nombreuses palmeraies.

#### Importance économique

Le palmier dattier est une plante utilisée dans la consommation humaine et animale, en pharmacie, en cosmétique, en biscuiterie, en menuiserie et pour le chauffage.

Il joue un rôle indéniable dans le maintien des groupes humains au sein des zones arides. C'est un stabilisateur de l'économie saharienne. Ce sont environ 4,5 millions de personnes qui, au travers du monde, vivent de la culture du palmier dattier.

La production mondiale des dattes est estimée à 2,5 millions de tonnes par an et se situe au quatrième rang des productions fruitières tropicales et subtropicales. Les plus grands pays producteurs sont l'Arabie Saoudite, l'Iran, l'Egypte et le Pakistan. On peut dire que pratiquement toute la production est autoconsommée. L'Europe et l'Amérique du Nord ne consomment qu'une toute petite part de la production.

Le bayoud a détruit dix millions de dattiers au Maroc, où il n'en reste plus que quatre millions. Les palmeraies du sud-ouest de l'Algérie sont atteintes et les autres pays producteurs de dattes sont menacés. L'impact de cette maladie se situe donc sur le plan économique, écologique et social. La quantité de plants nécessaires pour le repeuplement des palmeraies représente un chiffre d'affaire considérable [7].

#### Le jojoba

#### Importance écologique

Le jojoba est un arbuste originaire du désert du Sonora, au sud-ouest des Etats-Unis et au nord-ouest du Mexique.

Cette espèce est particulièrement intéressante par son port arbustif, son feuillage persistant, un développement racinaire en profondeur, sa résistance à de longues périodes de sécheresse, sa longue durée de vie, et enfin par le fait qu'elle ne nécessite que peu d'entretien [1].

Ces facteurs font que le jojoba est une plante stabilisatrice des sols, contribuant ainsi à empêcher la désertification. Elle peut servir pour implanter des ceintures autour des villes, créer des haies le long de routes ou autour de champs cultivés en lisière du désert, favoriser la fixation de dunes.

Nous sommes en présence d'une espèce qui, moyennant un minimum de techniques d'implantation et d'entretien dans les premiers stades de son développement, peut constituer un apport de très longue durée à la lutte contre l'avancement du désert.

Un autre aspect de l'importance écologique du jojoba tient au fait que son huile peut remplacer en partie les lubrifiants classiques dérivés du pétrole. Dans le cadre de la tendance mondiale actuelle à ménager les réserves fossiles, cette source d'huile végétale se présente comme une alternative prometteuse qui semble être le principal débouché de ce produit.

Enfin, il ne faudrait pas oublier un dernier aspect de l'intérêt écologique du jojoba : l'huile, par sa similitude de composition et d'utilisation avec le « spermacéti » ou blanc de baleine (huile extraite du cerveau des cachalots), peut le remplacer efficacement et éviter ainsi l'extermination de cette espèce animale qui, bien que protégée, continue d'être chassée de façon sauvage.

# Importance économique

De la graine de jojoba, on extrait 40 à 60 % de cire liquide dépourvue de triglycérides, soit par pression mécanique, soit par solvant. La production d'un hectare de jojoba équivaut environ à la quantité de cire extraite de 75 baleines. Cette huile possède, en particulier, la propriété remarquable de conserver une viscosité constante quelle que soit la température et présente conjointement de nombreux avantages. Cette cire a, d'ores et déjà, de larges applications potentielles à l'état liquide ou solide (obtenu par hydrogénation).

Les farines, issues des tourteaux obtenus après extraction de la cire, peuvent être utilisées pour l'alimentation animale puisqu'elles contiennent 20 à 30 % de protéines.

On peut situer, à l'heure actuelle, les surfaces plantées en jojoba dans le monde, entre 30 000 et 40 000 hectares. Le plus grand accroissement des superficies est attendu de l'Amérique du Sud; beaucoup de plantations initiales, issues de graines tout-venant, seront replantées en matériel végétal plus productif issu de clonage. Le rendement potentiel, à pleine maturité, du matériel amélioré issu de multiplication végétative est estimé à trois tonnes de graines par hectare. Des progrès considérables sont attendus des méthodes de récolte et d'extraction de l'huile [5].

On peut estimer que les investissements effectués, pendant les cinq premières années, 35 000 à 40 000 F/ha, entretien compris, seront normalement amortis avant la dixième année. Il est raisonnable de penser que d'ici une dizaine d'années, il sera nécessaire de disposer d'un minimum de 200 000 hectares de jojoba pour satisfaire la demande mondiale qui croît chaque année.

# L'amandier, l'olivier et le pistachier

### Importance écologique

Les arbres fruitiers tels que l'olivier, l'amandier et le pistachier jouent un rôle important dans l'équilibre de l'écosystème semi-désertique. Le verger, par sa longue durée de vie, est un élément de fixation de la population et permet d'abriter des cultures vivrières nécessaires à la consommation à court terme.

Par rapport à d'autres espèces, ils utilisent de façon très efficace l'eau du sol et du sous-sol. Par leur système racinaire très développé, ils participent à la stabilisation et à la conservation du sol (cas du pistachier sur sols sableux en Tunisie). Ces arbres ont été plantés, au vue de leur grande capacité d'adaptation, sur des terrains de mauvaise qualité, inaptes à toutes autres cultures (sols pauvres, forte pente, etc.).

# Importance économique

L'olivier tient une part très importante dans l'économie des pays circumméditerranéens. On commercialise dans le monde quelques deux millions de tonnes d'huile d'olive, l'Italie étant, avec 34 % du total, le plus grand producteur, suivi de l'Espagne avec 22 % [3]. Dans certains pays, l'extension de la culture de l'olivier fait partie du programme de développement économique, tandis que dans d'autres, comme l'Espagne, la saturation du marché interne a fait ralentir la progression de la culture.

L'amandier est une culture qui s'étend rapidement. Le marché européen est en progression régulière mais la production des pays méditerranéens est très insuffisante. En 1987, les pays de la CEE ont à eux seuls importé 100 000 tonnes d'amandes décortiquées provenant des Etats-Unis. L'amandier est une culture peu exigente, rentable et à débouchés sûrs. Les efforts vont actuellement à l'extension des surfaces cultivées dans le pourtour méditerranéen et à l'amélioration du rendement. Le verger traditionnel est peu productif et le volume de récolte très irrégulier. Actuellement l'Espagne est le deuxième pays producteur d'amandes derrière les Etats-Unis [2].

Le pistachier est une culture qui a un grand avenir dans les régions arides et semi-arides méditerranéennes. Dans ce cas également, la production est insuffisante pour répondre à la demande grandissante du marché européen. La production mondiale de pistaches est de 130 000 tonnes, l'Iran étant le premier producteur, suivi des Etats-Unis, de la Turquie et de la Syrie. Dans son aire traditionnelle, le pistachier est relégué à des zones marginales, sans irrigation. La productivité est faible et irrégulière [4]. La sélection de variétés plus performantes incitera les agriculteurs à améliorer les pratiques culturales, y compris l'irrigation. La rentabilité actuelle étant forte, les perspectives d'augmentation de la production devraient inciter à l'extension des plantations.

# Utilisation des biotechnologies dans la stratégie d'implantation des espèces

Les conditions d'amélioration rapide de la production végétale passent par la sélection d'individus performants.

#### Critères de sélection

Dans le cadre d'un programme de mise en valeur des zones arides et semi-arides, les critères retenus sont :

- Les adaptations à des conditions d'environnement données comme l'alternance de température, les conditions extrêmes de température et d'éclairement, la disponibilité en eau, la qualité des sols. A ces adaptations correspondent la sélection d'individus présentant des résistances à différentes formes d'agression (sécheresse, salinité, froid prolongé...) et l'obtention, dans le cas d'espèces dioïques (jojoba, palmier dattier, pistachier), d'individus mâles et femelles avec des floraisons d'une part synchrones et d'autre part plus étendues.
- Les besoins agronomiques comme le contrôle nécessaire du rapport mâles/femelles dans les plantations, la palatabilité, la production de biomasse et la résistance au piétinement dans le cas des fourragères (A. halimus), la sélection de ports adaptés à l'utilisation agronomique (palmiers dattiers de petites tailles, Atriplex touffus...).

Seule une étude de tous ces paramètres sur le terrain peut permettre le choix des premiers spécimens. Cette étape est un préalable aux autres études biotechnologiques envisagées. C'est par exemple, la mise au point de techniques permettant la détermination précoce du sexe, mais aussi ce sont les études portant sur les facteurs contrôlant :

- la vitesse de croissance des jeunes plantes et en particulier de leurs racines;
- la quantité de fleurs par individu et corrélativement le nombre de graines par individu, le pourcentage d'avortement ovulaire et d'abscission florale;
  - la qualité et la quantité d'huile produite (cas des oléagineux : olivier, jojoba);
- la production des cyanoglucosides et leur présence dans les tourteaux dans le cas particulier du jojoba.

#### Sélection des individus performants et leur multiplication

Pour les espèces citées, la sélection sur le terrain aura un rôle essentiel mais l'apport des techniques de biologie moléculaire à un tel programme d'amélioration est évident. Les recherches devront porter par exemple sur les gènes contrôlant le métabolisme des huiles et des cires ou, dans le cas du Jojoba, celui des cyanoglucosides. Il y a aussi, nous l'avons vu, les résistances à la sécheresse et le contrôle de la floraison.

Le clonage des individus performants sera tributaire de la culture *in vitro* et ce clonage permettra, entre autre, d'obtenir des plantations homogènes.

On peut envisager de combiner plusieurs approches comme dans le cas de l'exploitation de la vigueur hybride. La production d'hétérosis est un des moyens les plus efficaces pour augmenter le rendement au champ. Or, la production d'hybrides supérieurs, chez les plantes dioïques telles que le jojoba, n'est pas facile en raison de la difficulté à produire des lignées consanguines. De ce point de vue, la production de plantes haploïdes par voie androgénétique et gynogénétique devrait nous permettre d'obtenir ces lignées homozygotes et d'envisager la production d'hybrides.

Les semences artificielles (embryons somatiques ayant été enrobés de substances permettant une hydratation suffisante mais non excessive, une bonne perméabilité

à l'oxygène et une protection de l'embryon) pourront être utilisées dans des programmes de repeuplement (par exemple dans le cas des plantes fourragères surpâturées qui ne fournissent que peu de graines, mais aussi dans les cas où l'on doit passer par l'embryogenèse somatique après des opérations de transformation par intégration de gènes). Par rapport aux vitroplants classiques, la semence artificielle présente des avantages de stockage, de transport et d'utilisation par le producteur.

# Conclusion

Sans doute, dans ce domaine comme dans d'autres, tout le monde s'accordera à le reconnaître, seul un intéressement des populations concernées donne une chance à un projet d'aboutir. De ce point de vue, des organismes internationaux tels que les ONG, peuvent aider à définir et faire passer un message. Mais il est évident que pour les Etats concernés, seul un projet susceptible d'attirer les investisseurs pourra bénéficier d'un soutien durable. Le système d'espèces retenu doit pouvoir répondre aux diverses attentes.

Par ailleurs, il ne faut pas perdre de vue que sur ce thème, un projet portant d'une part sur une seule espèce, ou d'autre part sur une seule technique (biologie moléculaire, culture *in vitro*, technique culturale...) a peu d'avenir à long terme. On peut même affirmer qu'un programme scientifique, non sous-tendu par des objectifs sociaux et commerciaux, sera dans ce domaine du repeuplement des zones arides peu porteur d'énergies créatrices. Parallèlement le système d'espèces et les technologies mises en œuvre doivent apparaître comme un ensemble cohérent.

La formulation de cette stratégie a pour but de faciliter la mise en place d'un réseau international de compétences et de faire naître l'idée qu'un redressement économique n'est possible que par le biais d'une telle approche.

#### Références

- 1. Benzioni A, Dunstone RL. (1986). Jojoba: adaptation to environmental stress and the implications for domestication. *The Quaterly Rev of Biol*, 61, 2, 177-199.
- Felipe AJ. (1987). Observaciones sobre comportamiento frente a helodas tardias en almendro. VII colloque du groupe de recherche et d'étude méditerranéenne pour le pistachier et l'amandier. Programme de recherche Agrimed. CEE, rapport EUR 11557. Reus (Tarragone), Espagne. 17-19 juin, pp. 123-130.
- Giaccone R. (1987). Un patrimoine à entretenir : l'olivier. Ed. Société agricole du Var. Draguignan, 164 p.
- 4. Monastra F, Avanzato D, Lodoli E. (1987). Il pistacchio nel mondo confroto tra la pistacchicoltura delle arce tradizionali e quella emergente degli Stati Uniti VII colloque du groupe de recherche et d'étude méditerranéenne pour le pistachier et l'amandier. Programme de Recherche Agrimed. CEE, rapport EUR 11557. Reus (Tarragone), Espagne. 17-19 juin, pp. 271-298.

# Espèces adaptées aux conditions d'aridité du pourtour méditerrannéen

- 5. Schilling R. (1988). Le jojoba: situation et perspectives, in: IRHO-CIRAD ed. *Bibliographie*, n° 168, Montpellier.
- Osmond C B, Björkman O, Anderson DJ. (1980). Physiological process in plant ecology. Toward a synthesis with Atriplex. In *Ecological studies*. 36, Springer-Verlag (Berlin), 468 p.
- 7. Zaïd M. (1989). Embryogenèse somatique chez le palmier dattier, *Phoenix dactylifera*. Thèse de doctorat université Paris-Sud.

#### Remerciements

Nous remercions M. le Professeur Y. Demarly, président du comité du réseau de l'AUPELF, pour l'encouragement qu'il a toujours bien voulu apporter à notre travail.

