

The 20 000 772

50376.
1999-
465

UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNOLOGIES DE LILLE

N° attribué par la bibliothèque : 807

THESE

pour obtenir le grade de

DOCTEUR D'ETAT

Discipline : Sciences Naturelles

présentée et soutenue publiquement

par

HANIFI Leïla

le **6 décembre 1999**

Titre :

**CONTRIBUTION A L'ETUDE DE L'HETEROSIS ET DE L'INTERET DES
F₁, F₂ ET LIGNEES HAPLOIDES DOUBLEES CHEZ L'ORGE**

Jury



M. VERNET Ph.
M. JEAN R.
M. GALLAIS A.
M. JESTIN L.
M. DEVAUX P.
M. VAN DIJK H.

Président
Directeur de thèse
Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Examineur

GLOSSAIRE

AGC : aptitude générale à la combinaison. C'est la moyenne des descendants d'un individu en croisement avec les individus de la population ou du plan de croisement.

ASC : aptitude spécifique à la combinaison. C'est l'écart présenté par un hybride par rapport aux prédictions d'additivité des aptitudes générales.

Code des variétés parentales :

| | |
|-----------------|----|
| - Jaidor..... | 3 |
| - Motan..... | 6 |
| - Beecher..... | 13 |
| - CM 67..... | 14 |
| - Prato..... | 15 |
| - Apizaco..... | 16 |
| - Ensenada..... | 17 |
| - Saïda..... | 18 |

Coefficient de parenté : Le coefficient de parenté ϕ de deux individus est la probabilité de tirer chez l'un et l'autre deux allèles homologues identiques (Malécot, 1948)

Effets réciproques : différence entre deux croisements réciproques due à l'effet maternel (effet réciproque général) et à un reliquat r_{ij} apparaissant comme une interaction de réciprocité spécifique du croisement i par j (effet réciproque spécifique).

Héritabilité au sens large : rapport de la variance génétique totale à la variance phénotypique.

Héritabilité au sens stricte : rapport de la variance génétique additive à la variance phénotypique.

Hétérosis économique : hétérosis calculé au niveau de chaque croisement par rapport à la meilleure variété parentale incluse dans l'essai.

Hétérosis moyen : hétérosis calculé au niveau de la moyenne de toutes les F_1 par rapport à la moyenne de tous les parents inclus dans l'essai.

Hétérosis parental ou général : hétérosis lié au parent

Hétérosis relatif : moyenne des hétérosis par rapport au parent moyen calculés au niveau des différents croisements.

Hétérosis spécifique : c'est l'aptitude spécifique à la combinaison.

Homéostasie : stabilité du comportement des génotypes d'un milieu à un autre.

Locus multigénique : le locus *Hor* est qualifié de multigénique, car le gène *Hor* est fait de multiples copies d'un gène de base qui diffèrent ensuite entre eux par substitution, insertion ou délétion de nucléotides.

Rendement moyen : rendement calculé à partir de la moyenne des rendements des différents génotypes de l'essai.

Transgression : obtention de génotypes recombinés en F₂ supérieurs aux parents pour le caractère étudié.

Valeur propre : valeur phénotypique d'un individu.

Variables utilisées :

- RDTGR = rendement en grain
- RDTPA = rendement en paille
- NBRGR = nombre de grains
- PMG = poids de 1000 grains
- IR = indice de récolte
- EPIS = nombre d'épis par plante
- HAUT = hauteur de la tige
- LONGE = longueur de l'épi
- ENTRN = nombre d'entre-noeuds
- EPIAI = épiaison
- PDSGR = poids des grains du maître-brin
- OIDVERT = progression verticale de l'oïdium

$r_{E(x,y)}$ = corrélation environnementale

cov E = covariance environnementale

cov G = covariance génétique

cov P = covariance phénotypique

σ^2E = variance environnementale

σ^2G = variance génétique

σ^2P = variance phénotypique

$r_{G(x,y)}$ = corrélation génétique

$R^2(i,j)$ = distance de Hanson et Casas

TABLE DES MATIERES

| | |
|--|----|
| OBJET ET PLAN DE LA THESE | 1 |
| INTRODUCTION | 3 |
| 1 – L'orge comme céréale mondiale et céréale en Algérie | 3 |
| 2 – Caractères généraux du genre <i>Hordeum</i> | 3 |
| 2.1 - Morphologie de l'épi, caractère systématique du genre | 3 |
| 2.2 – Régime de reproduction et cycle de vie | 5 |
| 2.3 – Taxinomie du genre <i>Hordeum</i> (selon von Bothmer et Jacobsen, 1985 et 1995) | 5 |
| 2.4. – Origine et systématique de l'espèce <i>vulgare</i> | 6 |
| 2.5 – <i>Hordeum bulbosum</i> | 6 |
| 1 ^{ère} PARTIE : LES PLANTES HAPLOIDES DOUBLEES : ORIGINE ET PRODUCTION | 7 |
| I – Etat de nos connaissances sur l'origine, la production et l'exploitation en sélection des plantes haploïdes d'orge | 7 |
| 1 - Définition | 7 |
| 2 – Les différentes origines des haploïdes | 7 |
| 2.1 – Haploïdes spontanés | 7 |
| 2.2 – Haploïdes induits | 9 |
| 3 – Les méthodes d'obtention d'haploïdes chez l'orge | 9 |
| 4 – La démarche expérimentale de la méthode <i>bulbosum</i> et les facteurs d'amélioration de la méthode | 10 |
| 4.1 – L'hybride <i>H. vulgare</i> x <i>H. bulbosum</i> | 10 |
| 4.2 – Les embryons hybrides <i>vulgare</i> x <i>bulbosum</i> produisant des plantes haploïdes <i>vulgare</i> par élimination des chromosomes <i>bulbosum</i> | 11 |
| 4.3 – Causes cytologiques et génétiques de l'élimination des chromosomes <i>bulbosum</i> | 12 |
| 4.4 – L'élimination du génome <i>bulbosum</i> en fonction du niveau de ploïdie des deux parents du croisement interspécifique | 12 |
| 4.5 – Facteurs d'amélioration de la méthode | 13 |
| 4.6 – Aspects cytologiques de la réalisation particuliers de l'hybride diploïde <i>H. vulgare</i> x <i>H. bulbosum</i> | 14 |
| 5 – Avantages et inconvénients de l'haploïdie pour les programmes de sélection | 14 |
| 6 – Comparaison des lignées pures de plantes haploïdes doublées et celles obtenues par la méthode de sélection classique chez l'orge (généalogique, bulk, SSD) | 15 |
| II – La production des plantes haploïdes et haploïdes doublées par la méthode <i>bulbosum</i> | 16 |
| 1 – La méthode <i>bulbosum</i> | 16 |
| 1.1 – Réalisation de la plante haploïde | 16 |
| 1.2 – Doublement du nombre de chromosomes à la colchicine de plantes haploïdes | 21 |
| 1.3 – Récolte des grains sur les plantes haploïdes doublées | 22 |
| 2 – Les données de production | 22 |
| 2.1 – L'essai 1985/1986 : l'obtention d'hybrides <i>vulgare</i> x <i>bulbosum</i> par l'utilisation de pollinisateurs <i>bulbosum</i> principalement tétraploïdes à partir de plantes F ₁ de génotype varié | 22 |
| 2.2. – L'essai 1987/1988 : obtention de plantes haploïdes doublées par l'utilisation de clones <i>bulbosum</i> diploïdes à partir de plantes F ₁ de génotype [Motan x CM67] | 28 |

| | |
|---|----|
| 2.3. – Conclusion | 34 |
| III – Les nombres chromosomiques des plantes utilisées et produites dans la méthode <i>bulbosum</i> | |
| 1 – Les techniques cytologiques | 34 |
| 1.1. – Techniques d'analyse des mitoses racinaires (Cauderon et Gay, 1984) | 34 |
| 1.2 – Techniques d'analyse des méioses (Taleb, 1983 et Cauderon et Gay, 1984) | 35 |
| 1.3 – Observations au microscope | 35 |
| 2 – Les nombres chromosomiques des parents du croisement interspécifique, <i>H. vulgare</i> F ₁ Motan x CM 67 et <i>H. bulbosum</i> et des plantes produites par ce croisement, les plantes haploïdes (V) et les plantes haploïdes doublées (VV) | 39 |
| 2.1 – Le nombre chromosomique des parents du croisement interspécifique | 39 |
| 2.2 – Le nombre chromosomique des plantes haploïdes | 39 |
| 2.3 – Le nombre chromosomique des plantes haploïdes doublées | 39 |
| 2.4 - Conclusion | 39 |
| IV - Conclusion | 40 |

2^{ème} PARTIE : L'HETEROSIS BASES GENETIQUES ET POSSIBILITES D'UTILISATION

| | |
|---|----|
| I - Bibliographie | 41 |
| 1 – Définitions, mécanismes et utilisation | 41 |
| 1.1 – Origine physiologique de l'hétérosis | 41 |
| 1.2 – Utilisation de l'hétérosis | 43 |
| 2 – Importance et manifestation de l'hétérosis chez les céréales | 43 |
| 2.1 – Hétérosis au niveau du rendement en grain chez différentes céréales | 43 |
| 2.2 Hétérosis au niveau des composantes du rendement en grain et de l'indice de récolte | 45 |
| 2.3 – Caractères morphologiques et physiologiques (tableau 2.5) | 47 |
| 2.4 – Homéostasie des variétés hybrides | 49 |
| 3 – Effets génétiques en cause et possibilités de fixation de l'hétérosis | 49 |
| 4 – Prédiction de la valeur des F ₁ | 51 |
| 4.1 - Distance parentale calculée à partir de données phénotypiques | 51 |
| 4.2 – Distance calculée à partir de données génotypiques | 53 |
| 5 – Evolution de l'hétérosis de la F ₁ à la F ₂ | 55 |
| II – Matériel et méthodes | 55 |
| 1 – Le matériel végétal | 55 |
| 2 – Dispositifs expérimentaux et techniques culturales | 56 |
| 2.1 – Production de grains F ₁ | 56 |
| 2.2 – Essai diallèle 1985/1986 | 56 |
| 2.3 – Comparaison F ₂ et F ₁ essai 1987/1988 | 56 |
| 2.4 – Etude des lignées HD essai 1990/1991 | 56 |
| 3 – Caractères analysés sur les F ₁ , F ₂ , parents et HD | 56 |
| 4 – Analyse des F ₁ | 57 |
| 4.1 – Analyse du diallèle par la méthode Griffing | 57 |
| 4.2 – Analyse de l'hétérosis général et spécifique | 57 |
| 4.3 – Corrélations entre la valeur F ₁ et différents paramètres | 59 |
| 4.4 – Variances et corrélations environnementales au niveau F ₁ et parents | 59 |
| 4.5 – L'analyse du diallèle par la méthode Hayman | 61 |
| 5 – Comparaison F ₁ – F ₂ et parents | 61 |
| 6 – Comparaison HD, F ₁ et F ₂ | 61 |
| 6.1 – Héritabilités et corrélations génétiques au niveau des HD | 61 |

| | |
|---|-----|
| 6.2 – Héritabilité au sens large, réponse à la sélection et corrélations génétiques au niveau des F ₂ | 62 |
| 6.3 – Comparaison des moyennes et des variances | 63 |
| III - Résultats | 63 |
| 1 – Analyse de l'hétérosis | 65 |
| 1.1 – Comparaison des F ₁ et des parents | 65 |
| 1.2 – Comparaison des corrélations phénotypiques et environnementales au niveau des F ₁ et des parents | 69 |
| 1.3 – Analyse des effets d'aptitude à la combinaison et de l'hétérosis | 75 |
| 1.4 – Héritéité des caractères selon l'analyse de Hayman | 83 |
| 1.5 - Discussion | 87 |
| 2 – Comparaison F ₁ – F ₂ - parents | 89 |
| 2.1 – Comparaison des moyennes F ₁ , F ₂ et parents (figure 2.7) | 89 |
| 2.2 – Test de non additivité de Mather | 91 |
| 2.3 – Discussion et conclusion | 91 |
| 3 – Moyennes et variabilité des lignées HD | 95 |
| 3.1 – Comparaison des moyennes HD et des plantes F ₂ | 95 |
| 3.2 – Variabilité des lignées HD et possibilités de transgression | 97 |
| 3.3 – Variances génétiques des caractères et variances environnementales | 103 |
| 3.4 – Héritabilités HD et F ₂ | 105 |
| 3.5 – Corrélations phénotypiques et génétiques au niveau des HD et des F ₂ | 105 |

3^{ème} PARTIE : STRUCTURE ET GENETIQUE DES HORDEINES ET ILLUSTRATION DE LA SEGREGATION DES ALLELES SUR UNE POPULATION F₂ ET LIGNEES HAPLOIDES DOUBLEES CORRESPONDANTES

| | |
|---|-----|
| I – Les hordéines, protéines de réserve majeures du grain d'orge | 111 |
| 1 – Les hordéines parmi les protéines du grain d'orge | 112 |
| 1.1 – Classification des protéines suivant leur caractère de solubilité | 112 |
| 1.2 – Les caractères chimiques des protéines | 112 |
| 1.3 – Les composants protéiques du grain d'orge et conséquence sur la valeur nutritive du grain | 113 |
| 1.4 - Conclusion | 114 |
| 2 – Structure et localisation cytologique des hordéines | 114 |
| 2.1 – Les types d'hordéines | 114 |
| 2.2 – Les sous-unités des hordéines | 116 |
| 2.3 – Cytologie des hordéines | 120 |
| 2.4 – Conclusion sur les hordéines | 122 |
| 3 – La génétique des hordéines | 122 |
| 3.1 – Les gènes des hordéines | 122 |
| 3.2 – La recombinaison | 123 |
| 3.3 – La cartographie | 124 |
| 3.4 – La structure multigénique des loci <i>Hor</i> 1, 2 et 5 | 126 |
| 3.5 – Utilisation des haploïdes doublés dans le cadre de la génétique des hordéines | 129 |
| 4 - Conclusion | 130 |
| II – Matériel et méthodes | 131 |
| 1 – Matériel végétal | 131 |
| 2 – Extraction et électrophorèse des protéines totales et des hordéines | 131 |
| 2.1 – Extraction et électrophorèse des protéines totales | 131 |
| 2.2 – Extraction séquentielle et électrophorèse sur gel de gradient sur les | |

| | |
|---|-----|
| composants des protéines | 133 |
| III - Résultats | 133 |
| 1 – Les protéines totales sur profils électrophorétiques de gel linéaire (figures 3.5 et 3.6) | 133 |
| 2 – Définition des phénotypes d'hordéines B et C et D sur profils électrophorétiques d'hordéines et protéines totales | 134 |
| 2.1. –Les phénotypes des hordéines analysés sur les profils d'hordéines | 134 |
| 2.2. –Reconnaissance des phénotypes d'hordéines sur les profils des hordéines totales | 135 |
| 3. – Analyse génétique des populations de grains F ₂ et des grains des lignées HD | 136 |
| 3.1 – Les ségrégations aux loci <i>Hor 2</i> et <i>Hor 3</i> | 136 |
| 3.2 – Les recombinaison entre les loci des hordéines D et B | 137 |
| 4 - Discussion | 137 |
| 5 - Conclusion | 139 |
| CONCLUSION GENERALE | 145 |
| REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES | 149 |
| ANNEXE | 166 |

OBJET ET PLAN DE LA THESE

Notre travail de thèse porte sur l'analyse et les possibilités d'utilisation (par les sélectionneurs) de l'hétérosis chez l'orge.

De nombreuses études génétiques sur l'hétérosis ont été réalisées sur les plantes allogames et en particulier chez le maïs. Chez les espèces autogames les études sont plus rares, le niveau d'hétérosis y est plus faible et la production de semences hybrides est difficile. Dans la mesure où les problèmes de production de semences hybrides (difficulté d'obtention de semences en grande quantité, de disponibilité de gamétocide efficace) ne sont pas résolus, la production de variétés homozygotes reste actuellement le moyen le plus utilisé. Celle-ci peut se faire par des méthodes de sélection classique ou par l'haplométrie. Cette dernière permet un gain de temps appréciable lorsqu'elle est utilisée tôt dans le schéma de sélection.

Nous avons donc entamé chez l'orge des travaux pour répondre à plusieurs questions.

- Quelle est l'importance de l'hétérosis dans nos conditions de culture ?
- Peut-il être fixé ?
- Est-il possible d'utiliser les F_2 ?
- La production de plantes haploïdes doublées est-elle une voie à développer pour obtenir rapidement des lignées aussi bonnes que les hybrides ?

Ces différentes questions ont fait l'objet d'expériences menées en parallèle. Mais préalablement nous avons dû mettre au point la technique de production d'haploïdes doublés ; les résultats en sont présentés dans une première partie. Pour voir l'importance de l'hétérosis, nous avons établi un plan de croisement diallèle complet 8×8 avec F_1 , réciproques et parents. L'analyse de ce dispositif nous permettra de chiffrer, dans notre matériel et nos conditions, l'importance de l'hétérosis, et d'en étudier les bases génétiques avec l'approche de la génétique quantitative. Cela nous permettra de répondre à la question des possibilités de fixation de l'hétérosis. Deux autres voies d'utilisation des F_1 , l'une à la génération F_2 et l'autre en lignées HD obtenues par haplodiploïdisation, ont été explorées. L'ensemble des résultats est présenté dans une deuxième partie. Enfin dans une troisième partie, nous testons les haploïdes doublés en tant qu'individus homozygotes diploïdes issus de gamètes par l'étude de la génétique des hordéines.

En guise d'aide mémoire, nous avons réuni dans le tableau 1, p. 2, les étapes et les dates de réalisation de notre programme de recherche.

Certains tableaux de données ont été mis en annexe en fin de mémoire après les références bibliographiques.

Sauf indication contraire, la signification d'un test statistique est donnée de la manière suivante : *, $P = 0,05$; **, $P = 0,01$; ***, $P = 0,001$.

Tableau 1 : Essais réalisés et dispositifs

| Années | Essais Réalisés | dispositifs |
|-----------|--|---|
| 1984/1985 | Croisements diallèles à 8 parents | - semis en lignes - 7 dates de semis |
| 1985/1986 | 56 F ₁ et réciproques + parents | - 3 blocs - 1 ligne d'1 m/génotype/bloc - espacement entre ligne : 25 cm - espacement entre plante : 10 cm |
| | 1 ^{ère} application de la méthode <i>bulbosum</i> | - 17 F ₁ - clones <i>bulbosum</i> 2 x et 4 x - obtention d'hybrides et 1 plante haploïde doublée |
| 1987/1988 | 2 F ₁ + 2 F ₂ + parents | - 3 blocs - F ₁ et parents : 1 ligne d'1 m/bloc - F ₂ : 3 lignes d'1 m/bloc - Espacement entre lignes : 25 cm - Espacement entre plantes : 3 cm |
| 1988/1989 | Production de plantes haploïdes doublées | - génotype <i>vulgare</i> : CM 67 x Motan - clones <i>bulbosum</i> 2 x : origine par les auteurs : Jensen, Pickering et Kasha |
| 1989/1990 | Multiplication des têtes de lignées HD | |
| 1990/1991 | F ₁ + F ₂ + HD + parents | - Génotype : Motan x CM 67 - 3 blocs - F ₁ : 1 ligne/bloc - F ₂ : 3 lignes/bloc - HD : 1 ligne/bloc - Parents : 1 ligne/bloc - Espacement entre lignes : 25 cm - Espacement entre plantes : 3 cm |

INTRODUCTION

1 – L'ORGE COMME CEREALE MONDIALE ET CEREALE EN ALGERIE

L'orge (*Hordeum vulgare* L.) est l'une des espèces les plus anciennement cultivées (7000 ans avant J.C.). Elle est la 4ème céréale dans le monde après le blé, le riz et le maïs. En Algérie, c'est la 3ème céréale du point de vue superficie et production.

L'importance agronomique de l'orge est due à sa grande faculté d'adaptation climatique et édaphique. C'est une espèce qui peut être cultivée dans des zones semi-arides où elle peut remplacer avantageusement le blé (culture exigeante) et donner de meilleurs rendements (car plus rustique).

Elle peut être utilisée pour l'alimentation animale, en vert (pâturage) ou en grains et humaine, en brasserie mais aussi comme aliment de base sous forme de pain et de couscous (Maroc et Algérie), tsampa (en Ethiopie) et plus récemment sous forme de nouveaux produits avec les orges nues soufflées et enrobées... (Canada), tandis que les autres céréales sont essentiellement cultivées pour la production de grains.

En Algérie, la production et les rendements de cette culture sont fortement liés aux conditions climatiques. Les rendements extrêmes ont varié de 3,5 à 14.03 qx/ha, respectivement en 1977 et 1996 (figure 1). Nous conduisons un programme d'amélioration sur cette espèce.

L'augmentation des rendements de l'orge peut se faire par des techniques de cultures appropriées (travail du sol, fertilisation et traitements phytosanitaires), mais aussi par la recherche de géotypes performants et adaptés aux différents milieux de culture. C'est une espèce autogame où l'on développe habituellement des variétés lignées. On peut aussi envisager de faire des variétés hybrides. Le choix entre variétés hybrides ou lignées pures dépend surtout de l'importance de l'hétérosis obtenu après croisements, de ses possibilités de fixation et d'utilisation à grande échelle.

2 – CARACTERES GENERAUX DU GENRE *HORDEUM*

L'orge cultivée (*Hordeum vulgare* L.) et l'orge bulbeuse (*Hordeum bulbosum* L.) ont été utilisées dans nos essais pour la production d'hybride F₁ (*Hordeum vulgare*) et pour l'haploïdie (*Hordeum vulgare* et *Hordeum bulbosum*). Ces deux espèces appartiennent au genre *Hordeum*.

2.1. – Morphologie de l'épi, caractère systématique du genre

Une morphologie particulière de l'épi caractérise le genre *Hordeum*. Aux nœuds sont insérés, côte à côte, trois épillets unifloraux, un médian et deux latéraux (*Bothmer et al.*, 1995). Ce triplet d'épillets est en position alterne de part et d'autre du rachis (disposition distique). L'épillet médian est sessile à subsessile. A son aisselle peut exister un très court axe latéral appelé rachilla. Deux glumes sont insérées au même niveau sur le coté abaxial de chaque épillet. La fertilité des épillets, déterminée génétiquement, est variable selon les espèces. Les fleurs comprennent une lemma avec une arête (barbe) longue ou courte, ou une lemma mutique, et une paléa aiguë, ou obtuse ou même bifide. La taille de la paléa est aussi longue ou plus courte que la lemma. La longueur des barbes varie de 0.5 à 25 cm. Les glumes sont planes, ou plus ou moins ailées à sétacées. Le rachis est fragile à maturité chez toutes les espèces, à l'exception de *H. bogdanii* et de *H. vulgare* subsp. *vulgare*.

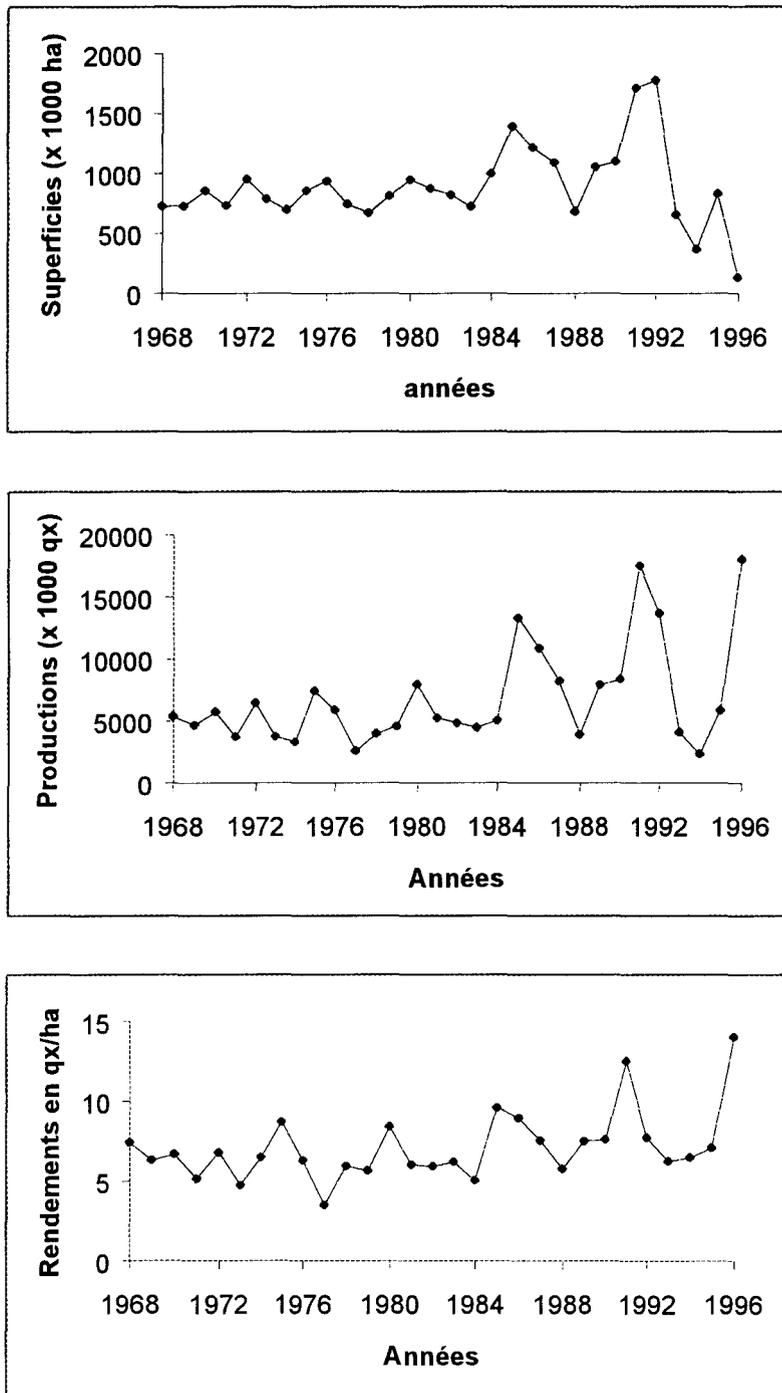


Figure 1 : Evolution des superficies, des productions et des rendements de l'orge en Algérie, de 1968 à 1996.

2.2. – Régime de reproduction et cycle de vie

Certaines espèces appartenant à ce genre, comme *Hordeum vulgare*, sont autogames, d'autres sont allogames. Dans ce genre, il y a deux durées de cycle de vie : annuelle et pérenne (figure 1). Selon *Bothmer et al.* (1981) et *Bothmer and Jacobsen* (1985), le caractère annuel a été différencié à partir du caractère pérenne dû à une lourde pression de sélection. Les formes annuelles sont principalement trouvées dans les régions arides ou dans d'autres biotopes plus ou moins extrêmes (exemple : survie à la période de chaleur et à la sécheresse). Parmi ces espèces, on peut dresser pour certaines une phylogénie entre espèces pérennes et annuelles (figure 2).

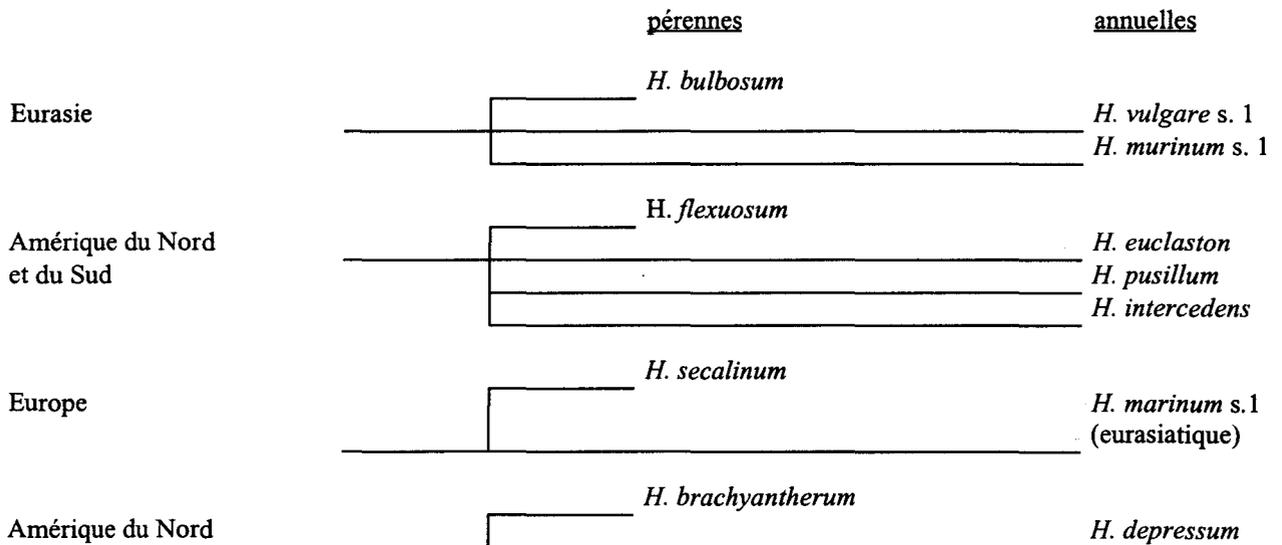


Figure 2: Différenciation des annuelles chez *Hordeum* et leurs relations avec les espèces pérennes (*Bothmer et al.*, 1981).

2.3. – Taxinomie du genre *Hordeum* (selon von *Bothmer et Jacobsen*, 1985 et 1995)

Hordeum est un genre appartenant à la tribu des *Triticeae* caractérisée par l'épi simple aux épillets sessiles. Ce genre se subdivise en quatre sections qui sont : *Hordeum*, *Anisolepis*, *Critesion* et *Stenostachys*.

2.3.1. - Section *Hordeum* : Cette section comprend 3 espèces dont une est pérenne et les deux autres annuelles. Elle a une distribution allant de la zone méditerranéenne à l'ouest de l'Asie centrale. Les espèces de cette section ont des feuilles larges et planes, des oreillettes longues et distinctes, des épis longs et relativement larges, l'arête ou barbe de la lemma de l'épillet central est très longue et raide. Les glumes, principalement celles des épillets du centre, sont planes plus ou moins lancéolées et souvent ciliées dans la partie basale. Les grains sont grands. Les glumes et les barbes restent droits pendant le stade formation du grain. Cette section comprend les deux espèces utilisées dans les essais, *H. vulgare* et *H. bulbosum*.

2.3.2. - Section *Anisolepis* : Cette section, originaire d'Amérique du Sud et du Nord, comprend huit espèces uniquement diploïdes, pérennes ou annuelles. Elles sont toutes plutôt de petite taille, ont des feuilles plus ou moins grandes, manquant d'oreillettes et ont des épis étroits, presque linéaires. Le rachis est souvent distinctement ailé. Les glumes des épillets médians sont plus ou moins planes et les glumes des épillets latéraux dissemblables : la

supérieure est habituellement sétacée et l'inférieure plus plane. L'article du rachis est habituellement glabre, souvent épais, quelquefois très court.

2.3.3. - *Section Critesion* : Cette section, comprenant six espèces dont deux diploïdes, une tétraploïde et trois hexaploïdes, se rencontre dans l'Amérique du Nord et du Sud et dans l'est de la Sibérie. Les espèces de cette section sont caractérisées par des glumes sétacées, le plus souvent longues, et à maturité les glumes et les grains se dispersent. L'article de rachis est fin et subulé (rarement inexistant), habituellement densément rugueux et poilu, ex. *H. jubatum*.

2.3.4. - *Section Stenostachys* : C'est le plus grand groupe du genre (11 espèces) et aussi celui qui a une plus large zone de distribution. Actuellement, sa distribution comprend presque toutes celles du genre entier. Généralement, la section peut être décrite comme ayant des glumes de 0.5 à 2 cm de long, habituellement sétacées. Pendant le stade formation du grain, les glumes sont droites, plus ou moins érigées. Des oreillettes courtes sont habituellement présentes dans certaines espèces eurasiennes. A l'exception de *H. depressum* d'Amérique du Nord et *H. marinum* d'Eurasia qui sont annuelles, toutes les autres espèces sont pérennes. Certaines espèces comprennent des cytotypes diploïdes et tétraploïdes, d'autres uniquement des tétraploïdes et enfin à la fois des diploïdes, tétraploïdes et hexaploïdes.

2.4. - *Origine et systématique de l'espèce vulgare*

L'ancêtre probable de l'espèce *vulgare* serait *H. spontaneum* (Hsu, 1975, et Zhou and Shao, 1981a, 1981b cités par Bothmer and Jacobsen, 1985).

Les découvertes archéologiques indiquent que la culture remonte au néolithique à environ 7000 ans A.C. (Zohary, 1973 cité par Bothmer and Jacobsen, 1985) ; la zone de culture d'origine est le croissant fertile dans le Proche-Orient. Cette espèce est diploïde ($2n = 2x = 14$).

On distingue dans l'espèce *vulgare* la sous-espèce *spontaneum*, taxon sauvage, à rachis fragile et la sous-espèce *vulgare*, taxon cultivé, à rachis rigide. La distinction entre variétés se fait de la manière suivante :

si dans chaque triplet l'épillet médian est seul fertile, alors que les épillets latéraux sont sans grains, on a l'orge à deux rangs (var. *distichon*) ;

si dans le triplet, les trois épillets sont fertiles, on a deux cas suivant la disposition des épillets latéraux :

- si les épillets latéraux des nœuds supérieurs et inférieurs se superposent, on a l'orge à quatre rangs (var. *tetrastichon*),

- si les épillets latéraux des nœuds supérieurs et inférieurs ne se superposent pas, on a l'orge à six rangs (var. *hexastichon*) appelée fréquemment escourgeon.

Le caractère fertilité des trois épillets est déterminé par un gène: l'allèle V (dominant) fait que seul l'épillet médian soit fertile, l'allèle v (récessif) fait que les trois épillets soient fertiles (Devaux et al., 1981, avec bibliographie).

2.5 – *Hordeum bulbosum*

C'est une espèce originaire de la zone méditerranéenne, mais son aire s'étend vers l'est jusqu'à l'Afghanistan et le Tadjikistan. On rencontre deux cytotypes, un diploïde ($2n = 2x = 14$) à l'ouest de la région méditerranéenne et un tétraploïde ($2n = 2x = 28$) à l'est. Cette espèce, pérenne, présente un entre-noeud basal élargi en bulbe. Elle est allogame stricte avec un système d'auto-incompatibilité. Elle peut se propager au moyen des bulbes.

1^{ème} PARTIE

LES PLANTES HAPLOIDES DOUBLEES : ORIGINE ET PRODUCTION

1^{ère} PARTIE

| |
|---|
| LES PLANTES HAPLOIDES DOUBLEES : ORIGINE ET PRODUCTION |
|---|

La mise à notre disposition des plantes haploïdes doublées fut pour nous le souci prioritaire au début de notre recherche. N'ayant pu les obtenir par un autre laboratoire, nous les avons produites nous-mêmes, comme nous le verrons, dans des conditions expérimentales très difficiles. Nous présentons les données génétiques sur leur origine et leurs caractéristiques (chapitre I), le déroulement et les résultats de la production (chapitre II) et la vérification Caryologique sur l'état haploïde et haploïde doublé des plantes produites (chapitre III).

I – ETAT DE NOS CONNAISSANCES SUR L'ORIGINE, LA PRODUCTION ET L'EXPLOITATION EN SÉLECTION DES PLANTES HAPLOÏDES D'ORGE

Après avoir défini, ce qu'est une plante haploïde et une plante haploïde doublée (1), nous décrivons comment les plantes haploïdes se forment naturellement et comment elles sont obtenues expérimentalement (2) puis nous citons les différentes méthodes d'obtention (3) et présentons de manière détaillée les aspects historiques et génétiques d'une des méthodes, la méthode *bulbosum* (4) ; enfin nous analysons les raisons de l'utilisation de ces plantes haploïdes doublées dans les programmes de sélection (5), et les comparons avec les homozygotes obtenus en méthode classique de sélection (6).

1. - DEFINITION

Un haploïde ou monoploïde est un individu qui possède le nombre gamétique de chromosomes, soit n chromosomes ou la moitié du nombre sporophytique normal : $n = x$ pour un diploïde, $n = 2x$ pour un autotétraploïde, $n = x + x'$ pour un allotétraploïde. Dans ce dernier cas, on peut préciser qu'il est un dihaploïde fait de deux génomes haploïdes juxtaposés. L'haploïde doublé (HD) est l'haploïde dont le nombre chromosomique a été doublé naturellement ou expérimentalement.

2. - LES DIFFERENTES ORIGINES DES HAPLOÏDES

Les individus haploïdes résultent du développement dévié du gamétophyte mâle ou d'une cellule du sac embryonnaire. Ce développement peut être spontané ou provoqué.

2.1 - Haploïdes spontanés

Des anomalies de la reproduction peuvent donner naissance à des haploïdes spontanés. Ces haploïdes spontanés sont produits à des fréquences très faibles. Le nombre d'haploïdes est d'environ 4 haploïdes pour 10^6 grains en polyembryonie chez l'asperge (Thevenin, 1968) ; chez la variété de blé dur Bidi 17, ce taux est de $2.6 \cdot 10^{-5}$ (Lacadena, 1974). Les différents cas de production d'haploïdes spontanés sont les suivants.

2.1.1. - *La polyembryonie*

Une cellule du sac embryonnaire (un synergide ou une cellule antipodiale) se développe à côté de l'oosphère fécondée. Il est possible d'obtenir deux plantes jumelles dont

Tableau 1.1 : Obtention d'haploïdes du genre *Hordeum* par croisement interspécifique (extrait de Potier, 1986)

| croisements | type d'haploïdes | Références citées par l'auteur |
|--|--------------------------|---|
| <i>H. bulbosum</i> x <i>H. secalinum</i> 2n = 4x = 28 2n = 4x = 28 | <i>H. bulbosum</i> | Cauderon et Cauderon, 1956 |
| <i>H. lechleri</i> x <i>H. vulgare</i> 2n = 4x = 28 2n = 2x = 14 | <i>H. lechleri</i> | Rajhathy et al, 1963 |
| <i>H. bulbosum</i> x <i>H. vulgare</i> 2n = 4x = 28 2n = 28 | <i>H. vulgare</i> | Davies, 1958 |
| <i>H. vulgare</i> x <i>H. bulbosum</i> 2n = 14 2n = 4x = 28 | <i>H. vulgare</i> | Lange, 1969 Kao et Kasha, 1969 |
| et croisement réciproque | | |
| <i>H. parodii</i> x <i>H. bulbosum</i> 2n = 6x = 42 2n = 14 | <i>H. parodii</i> | Subrahmanyam, 1977 |
| <i>H. brachyantherum</i> x <i>H. bulbosum</i> 2n = 4x = 28 2n = 14 | <i>H. brachyantherum</i> | Subrahmanyam, 1978 |
| <i>H. depressum</i> x <i>H. bulbosum</i> 2n = 4x = 28 2n = 14 | <i>H. depressum</i> | Subrahmanyam, 1978 |
| <i>H. arizonicum</i> x <i>H. bulbosum</i> 2n = 6x = 42 2n = 14 | <i>H. arizonicum</i> | Islam et Sparrow, 1974a Subrahmanyam, 1980 |
| <i>H. lechleri</i> x <i>H. bulbosum</i> 2n = 6x = 42 2n = 14 | <i>H. lechleri</i> | Subrahmanyam, 1980 |

l'une est diploïde et l'autre quelquefois haploïde (Potier, 1986). *Capsicum annuum* présente un cas de polyembryonie (Pochard et Dumas De Vaulx, 1971, cités par Potier, 1986).

2.1.2. - La semigamie

Il s'agit d'un type anormal de fécondation, car le noyau mâle pénètre dans l'oosphère, mais la fusion ne se produit pas. Les 2 noyaux subissent des mitoses indépendantes, ensuite les cellules deviennent uninuclées et l'embryon est une chimère de secteurs haploïdes d'origine maternelle et paternelle. Ce phénomène a été observé chez le cotonnier (Turcotte et Feaster, 1974 cités par Devaux, 1983).

2.1.3. - La gynogenèse et l'androgenèse spontanée

Seul le noyau de l'un des deux gamètes participe au développement de l'embryon dans l'oosphère. Si ce noyau est le noyau de l'oosphère (gamète femelle) on parle de gynogenèse (ou parthénogenèse femelle), si ce noyau est le noyau du gamète mâle qui avait pénétré dans l'oosphère, on parle d'androgenèse (ou parthénogenèse mâle) ; exemple : le maïs (Chase, 1969 cité par Potier, 1986).

2.2 - Haploïdes induits

La fréquence d'apparition des haploïdes est plus élevée que précédemment. L'induction de la formation d'embryons haploïdes peut se faire de différentes façons.

2.2.1. - Stimulation d'une parthénogenèse haploïde.

Une cellule du sac embryonnaire de la plante mère se développe sans fécondation par irradiation du pollen, application de substance chimique, traitements thermiques ou utilisation du système génétique (gènes "haploïdisants") (Lacadena, 1974). Powell et al. (1983) ont réussi à obtenir des haploïdes gynogénétiques d'orge en cultivant *in vitro* des ovaires pollinisés par du pollen irradié (rayon γ).

2.2.2. - Androgénèse et gynogénèse induite.

L'androgénèse induite est la culture *in vitro* de gamétophyte mâle. La gynogénèse induite est la culture *in vitro* de gamétophyte femelle par l'intermédiaire de la culture d'ovaires ou d'ovules.

2.2.3. - Hybridation interspécifique.

Des croisements entre espèces éloignées conduisent dans certaines conditions au développement d'embryons haploïdes ; dans le tableau 1.1, nous donnons des exemples pris chez l'orge ; dans tous les cas, lors des premières mitoses de l'embryon, les chromosomes d'un parent sont progressivement éliminés, l'embryon et la plante, qui en est issue, portent le génome à l'état haploïde de l'autre parent du croisement.

Nous ajoutons à cette liste, le croisement qui a eu le plus de succès dans la production d'haploïdes d'orge : *H. vulgare* ($2n = 2 \times 14$) x *H. bulbosum* ($2n = 2 \times 14$) (Kao et Kasha, 1969 dans Kasha et Kao, 1970).

3. - LES METHODES D'OBTENTION D'HAPLOÏDES CHEZ L'ORGE

Quatre méthodes sont actuellement utilisées chez l'orge :

- la culture *in vitro* de gamétophytes mâle (Clapham, 1971, 1973, Foroughi-Wher et al., 1976 cités par Devaux, 1983), celle-ci peut se faire, soit par la culture d'anthère, soit par la culture des microspores extraites de l'anthère,

- la culture de gamétophytes femelles (San Noeum, 1976),
- le système génétique *hap* (Hagberg et Hagberg, 1980),
- l'hybridation interspécifique (Kasha et Kao, 1970).

Dans les années 1980, les résultats des trois premières méthodes étaient faibles comparés aux résultats de l'hybridation interspécifique. En effet, Powell et Wood, 1984 cités par Sarrafi et al., 1986 trouvent des pourcentages de production d'haploïdes différents suivant la méthode utilisée. Ces pourcentages sont de 9,67% pour la méthode *bulbosum*, 0,24% pour la culture de microspores et 0,47% pour la méthode du gène *hap*. Cependant, le rendement de la technique de culture d'anthères a été amélioré depuis. En effet, Devaux (1998) a déterminé le nombre de plantes vertes viables obtenues par épi, pour les deux techniques (culture d'anthères et méthode *H. bulbosum*). Sur les 785 variétés d'orge de type hiver, 432 (soit 52 %) ont mieux répondu à la méthode de culture d'anthères qu'à la méthode *H. bulbosum*, tandis que sur les 178 de type printemps, 132 (soit 76 %) ont été plus efficaces avec la méthode *H. bulbosum*. Selon cet auteur, des génotypes récalcitrants à l'une ou à l'autre technique existent dans le réservoir génétique de l'orge, et, pour contourner ce problème et rendre la méthode de production des haploïdes performante, l'utilisation en parallèle des méthodes *H. bulbosum* et culture d'anthères est recommandée.

Pour la production de matériel de plantes haploïdes doublées, seule l'haploïdisation par la méthode *H. bulbosum* a été exploitée par nous.

4.- LA DEMARCHE EXPERIMENTALE DE LA METHODE *BULBOSUM* ET LES FACTEURS D'AMELIORATION DE LA METHODE.

Nous montrons d'abord comment les généticiens sont arrivés à découvrir que le croisement interspécifique *H. vulgare* x *H. bulbosum* donne, dans sa descendance, des plantes haploïdes (4.1), puis nous voyons comment a été mis en évidence le passage de l'état diploïde à l'état haploïde de l'embryon hybride (4.2), son contrôle génétique (4.3), et les facteurs qui le favorisent (4) ; enfin nous montrons que la plante hybride *vulgare* x *bulbosum* présente des caractéristiques cytologiques en relation avec la réalisation de l'état haploïde (4.5).

4.1 – L'hybride *H. vulgare* x *H. bulbosum*

L'hybride entre *H. vulgare* ($2n = 14$) et *H. bulbosum* ($2n = 28$) a été obtenu pour la première fois par Kuckuk (1934, cité par Konzak et al., 1951), en Allemagne. L'état triploïde de l'hybride a été confirmé par comptage chromosomique.

Des expériences similaires ont été effectuées plus tard par Smith (1942) aux USA et par Vinogradova en URSS (1949, les deux auteurs cités par Konzak et al., 1951), dans le but de transférer les caractères résistance à l'oïdium (*Erysiphe graminis* f. *hordei*) et vigueur hivernale de *H. bulbosum* à *H. vulgare*.

Konzak et al., (1951) ont obtenu 11 hybrides en cultivant les embryons *in vitro*. Ces hybrides se sont révélés totalement stériles (également en back-cross avec *H. vulgare*). Les auteurs avancent plusieurs causes de stérilité :

soit l'expression de gènes d'auto-incompatibilité présents dans l'espèce sauvage *H. bulbosum*, soit la méiose déséquilibrée de la F_1 triploïde, car les plantes d'*Hordeum bulbosum* utilisées sont tétraploïdes. En se référant au croisement *H. bulbosum* X *H. secalinum*, Y Cauderon et A Cauderon (1956) ajoutent comme autre cause de stérilité l'absence d'homéologie chromosomique.

Ultérieurement, dans les années 60, on constate que la difficulté d'obtenir l'hybride réside dans l'absence de formation de l'albumen qui nourrit l'embryon et on se rend compte que la culture *in vitro* de l'embryon la compense (Lange, 1971 a et b ; Kasha et Kao, 1970).

Dans les années 70, on découvre une nouvelle cause de stérilité avec certaines variétés d'orge : l'incompatibilité de croisement. Des phénomènes cytologiques de blocage du tube pollinique *bulbosum* dans le style *vulgare* de la variété Vada sont décrits, et un gène dominant de l'incompatibilité est mis en évidence (Pickering et Hayes, 1976). Son locus se trouve sur le chromosome 7 de *vulgare*. Des phénomènes d'incompatibilité ont également été montrés dans le croisement blé x *H. bulbosum*, et le gène responsable a été localisé sur le chromosome 5 du blé. Or, comme les chromosomes 7 de *vulgare* et 5 du blé sont homologues, on peut déduire que les incompatibilités du blé et de l'orge avec *H. bulbosum* pourraient avoir une origine et un mécanisme communs (Pickering, 1983b, cité par Bjornstad, 1986 ; Pickering, 1984).

Dans cette progression des connaissances sur l'hybride *H. vulgare* x *H. bulbosum*, nous avons volontairement mis à part la découverte de Kao et Kasha en 1969 (dans Kasha et Kao, 1970), parce qu'elle concerne directement notre travail, à savoir l'existence de plantes haploïdes dans la descendance du croisement. En effet, en utilisant comme pollinisateur des clones *bulbosum* diploïdes, et en cultivant les embryons extraits des caryopses, ces auteurs obtiennent des plantes hybrides diploïdes de phénotype *bulbosum* et des plantes haploïdes de phénotype *vulgare*. Ce travail a été à l'origine de la méthode *bulbosum* d'obtention de plantes haploïdes et a suggéré tous les travaux qui expliquent comment les plantes haploïdes *vulgare* peuvent se former à partir d'un embryon hybride *vulgare* x *bulbosum*, travaux que nous allons maintenant évoquer.

4.2. – Les embryons hybrides *vulgare* x *bulbosum* produisant des plantes haploïdes *vulgare* par élimination des chromosomes *bulbosum*

A notre connaissance, le phénomène d'élimination des chromosomes d'un des deux génomes de l'embryon hybride avait été signalé la première fois dans l'embryon hybride *H. bulbosum* (4x) x *H. secalinum* (4x) par Y. Cauderon et A Cauderon en 1956. D'après le nombre chromosomique de la plante et son phénotype, les auteurs concluent à l'élimination du génome entier (14 chromosomes) de *secalinum* et pensent avoir obtenu un clone de *H. bulbosum* "haploïde" à $n = 14$.

Travaillant sur des hybrides diploïdes (un génome d'*H. vulgare* et un génome d'*H. bulbosum*), triploïdes (un génome d'*H. vulgare* et deux génomes d'*H. bulbosum*) et tétraploïdes (deux génomes de chaque espèce), Lange et Jochemsen (1976) remarquent que des chromosomes sont éliminés au cours des divisions cellulaires de l'embryon et que ce phénomène est important au niveau des hybrides diploïdes et tétraploïdes, et persiste chez les hybrides hexaploïdes ; ils en ont conclu que la barrière du croisement entre *H. vulgare* et *H. bulbosum* ne pourrait être levée à un niveau de ploïdie élevé.

Des études cytologiques démontrèrent que la double fécondation se produit, que sept chromosomes sont graduellement et préférentiellement éliminés durant les premières mitoses de l'embryon et de l'albumen (Lange, 1971 b ; et Subrahmanyam et Kasha, 1973 ; Devaux, 1983), et que ce phénomène se situe entre le troisième et le cinquième jour après la pollinisation (Bennett et al., 1976 ; Fukuyama et Hosoya 1981 ; Devaux, 1983).

L'élimination des chromosomes se traduit par des figures cytologiques suivantes : disposition de certains chromosomes en dehors de la plaque métaphasique (Bennett et al., 1976 ; Noda et Kasha, 1981 a), chromosomes retardés en anaphase, et anomalies de structure chromosomique, telles des ponts anaphasiques (Bennett et al., 1976), des chromosomes fragmentés et un aspect dégradé de la chromatine (Subrahmanyam et Kasha, 1973).

La plante, issue de l'embryon à sept chromosomes éliminés, est de phénotype *vulgare*. Il en a été déduit que le génome haploïde de la plante est *vulgare*, et que le génome éliminé est *bulbosum*. Mais dans tous les travaux cités, il manquait une identification cytologique des chromosomes parentaux retenus ou éliminés. Cette démonstration a été apportée par Finch

(1983) qui a utilisé un cytotype *vulgare*, appelé *Tuleen 346*. Celui-ci est un triple homozygote de structure à la suite de translocations ; il en résulte qu'il possède sept paires de chromosomes de morphologie nouvelle par rapport à un *vulgare* normal et que dans l'embryon hybride *vulgare Tuleen 346* x *bulbosum*, les sept chromosomes *vulgare* sont distinguables des sept chromosomes *bulbosum*. L'auteur suit sur les mitoses successives de l'embryon la perte des chromosomes qui n'ont pas la morphologie *vulgare*, c'est-à-dire les chromosomes *bulbosum*. Il fournit ainsi la confirmation physique chromosomique que la plante haploïde porte le génome *vulgare*. Il analyse en plus le développement embryonnaire d'un autre croisement interspécifique, *H. marinum* (2 x) x *Tuleen 346* et il constate qu'il y a, selon ses termes, "élimination alternative" : l'embryon perd les chromosomes *marinum*, et l'albumen, les chromosomes *vulgare*, et dans ce dernier cas, l'élimination des chromosomes *vulgare* ne se fait pas, dans le temps, au hasard, les premiers éliminés sont les deux chromosomes nucléolaires (à constriction secondaire). L'ensemble de ces observations donnent à l'auteur des arguments pour certaines hypothèses sur les causes de l'élimination des chromosomes.

4.3. – Causes cytologiques et génétiques de l'élimination des chromosomes *bulbosum*

Les auteurs expliquent le processus de l'élimination sur le plan cytologique et ils discernent un contrôle génétique.

Bennett *et al.* (1976) suggèrent que l'élimination des chromosomes dans les cellules de l'embryon hybride peut être causée par une perturbation du contrôle du métabolisme protéique et que les chromosomes d'*H. bulbosum* pourraient être moins efficaces que les chromosomes d'*H. vulgare* à former un fuseau protéique normal. Pour Orton et Tai (1977 dans Noda et Kasha, 1981 a), cette perte de chromosomes résulterait d'une interaction incompatible des chromosomes et de la détermination du temps de formation du fuseau, ou bien elle serait une conséquence du mauvais fonctionnement du site organisateur du fuseau dans la cellule.

Les observations cytologiques de Finch (1983) peuvent être mises en relation avec ces hypothèses. Car cet auteur constate que les chromosomes retenus présentent un centromère bien visible grâce à un chromomère fixé au fuseau, et que les chromosomes éliminés ne présentent pas ce caractère cytologique. La retenue ou la perte du chromosome a son origine dans le fonctionnement du centromère.

Le premier travail génétique est celui de Barclay *et al.* (1972, cité par Ho et Kasha, 1975). Les auteurs suggèrent que les chromosomes 2 et 3 d'*Hordeum vulgare* contrôlent l'élimination des chromosomes de *bulbosum*. Des croisements, utilisant des monotélotrisomiques pour les chromosomes 2 et 3, permirent de conclure que les 2 bras du chromosome 2 et le bras court du chromosome 3 contiennent des facteurs génétiques majeurs responsables du contrôle génétique de l'élimination des chromosomes (Ho et Kasha, 1975). Mais les avis sont divergents, car selon Fukuyama et Kurozumi (1979), Fukuyama et Takahashi, (1975), l'élimination serait contrôlée par un ou plusieurs gènes contenus dans le noyau d'*H. bulbosum* et non dans *H. vulgare*. Il est probable que les deux génomes, *vulgare* et *bulbosum* possèdent chacun des gènes de contrôle de retenue pour lui-même ou d'élimination pour l'autre ; c'est la conclusion à laquelle a abouti Finch (1983) : chaque génome produit des métabolites qui déterminent spécifiquement l'élimination ou la résistance à l'élimination de l'autre génome.

4.4 – L'élimination du génome *bulbosum* en fonction du niveau de ploïdie des deux parents du croisement interspécifique

L'effet des combinaisons génomiques entre *H. vulgare* (2x ou 4x) et *H. bulbosum* (2x ou 4x) sur l'élimination des chromosomes d'*H. bulbosum* a été étudié par différents auteurs (tableau 1.2). Nous relevons, en particulier, que le croisement entre tétraploïdes *vulgare* et *bulbosum* donne des dihaploïdes *vulgare* (croisements 7 et 8).

Tableau 1.2 : Effet des combinaisons génomiques entre *H. vulgare* et *H. bulbosum* sur l'élimination des chromosomes d'*H. bulbosum* (extrait de Devaux, 1983, p. 18).

| N° des croisements | constitutions génomiques | | | effets au niveau des divisions ultérieures du zygote |
|--------------------|--------------------------|-------------|--------|--|
| | parent femelle | parent mâle | zygote | |
| 1 | VV | BB | VB | B est éliminé (Subrahmanyam et Kasha, 1973) |
| 2 | BB | VV | BV | |
| 3 | VV | BBBB | VBB | B maintenu (Lange, 1971 a et b) |
| 4 | BBBB | VV | BBV | |
| 5 | VVVV | BB | VVB | B est éliminé (Kao et Kasha, 1969, Subrahmanyam et Kasha, 1973) |
| 6 | BB | VVVV | BVV | |
| 7 | VVVV | BBBB | VVBB | BB est éliminé (Fukuyama et Takahashi, 1976 et Fukuyama et Hosoya, 1981) |
| 8 | BBBB | VVVV | BBVV | |

4.5. – Facteurs d'amélioration de la méthode

4.5.1. - *Influence de l'environnement*

Jensen (1982) nota l'influence de l'environnement et de la température pendant la croissance du parent *H. vulgare* sur le taux de plantules par rapport aux embryons.

Les expériences de Pickering et Morgan (1983) montrent que le pourcentage de production de plantes hybrides VB (et aussi de l'élimination des chromosomes) était principalement affecté par la saison et le génotype du pollinisateur. En effet, ce taux est significativement plus important lorsque les croisements sont effectués en serre, en hiver, ou en été, en culture au champ (Ho et al., 1978 ; Pickering et Morgan, 1979a, cités par Devaux, 1983). Le croisement entre *H. vulgare* cv. Emir et *H. bulbosum* cb 2929/1 donnait des embryons hybrides dans des pourcentages plus élevés (51 %), à de basses températures (inférieur à 15 °C) (Pickering, 1984). Cette basse température a surtout des effets pendant les 5 à 9 premiers jours après pollinisation.

4.5.2. - *Influence du génotype des deux parents *H. vulgare* et *H. bulbosum**

Plusieurs auteurs ont étudié l'influence du génotype des deux parents. Le taux de plantes obtenues par rapport aux embryons varie suivant le génotype du parent *vulgare* (Jensen, 1975 ; Foroughi-Wehr et al., 1981, Simpson et al., 1980 ; Bjornstad, 1986) et le génotype du parent *bulbosum* (Novak et al., 1977, cités par Pickering et Morgan, 1983 ; Devaux, 1987). En effet, des différences entre les variétés utilisées pour le taux de nouaison (Jensen, 1975, Pickering, 1980) et la production de plantes haploïdes ou haploïdes doublées (Jensen, 1975, Foroughi-Wehr et al. 1981,) ont été relevées. La majorité des cultivars d'*H. vulgare* sont compatibles avec *H. bulbosum*. Cependant, certains génotypes d'*H. vulgare* (ex. variété Vada) montrent une incompatibilité. Celle ci se manifeste, soit par l'hypertrophie de l'extrémité du tube pollinique, suivi de son éclatement dans les tissus du style avant de parvenir au micropyle, soit par un arrêt général de la croissance du tube (Pickering, 1981). L'utilisation d'hormones (IAA et GA3), la pollinisation d'un pistil auquel est enlevé préalablement le stigmate ou le style, la pollinisation avant maturité d'épillets intacts, en faisant une fente dans la lemma, et les effets d'environnement (suivie mois par mois et pendant une année) n'ont pas permis de surmonter la barrière de croisement entre la variété Vada (incompatible) et *H. bulbosum* (Pickering, 1980).

Cette incompatibilité pourrait être surmontée partiellement en utilisant des souches d'*H. bulbosum* sélectionnées et des conditions de milieu optimales (Pickering, 1979) ou bien en introduisant par croisement les allèles dominants dont dépend la production efficace d'haploïdes dans le génome de l'orge (Bjornstad, 1986). Devaux (1983) a mis au point, après une étude statistique approfondie, un mélange de pollen de quatre clones de *H. bulbosum* pour répondre à un programme de productions d'haploïdes à partir de différents génotypes *vulgare*.

4.6. – Aspects cytologiques de la réalisation particuliers de l'hybride diploïde *H. vulgare* x *H. bulbosum*

Dans certaines conditions bien précises (voir 4.5.1. influence de l'environnement), les chromosomes de *H. bulbosum* ne sont pas éliminés et il en résulte un véritable hybride *H. vulgare* x *H. bulbosum*. Kasha et son équipe ont essayé de comprendre ce phénomène. Noda et Kasha (1981b) constatèrent que l'hybride est en réalité une mosaïque de tissus au nombre chromosomique variable. Donc des chromosomes sont éliminés et cette élimination est plus importante dans les primordia des épis que dans les cellules du méristème racinaire. On a constaté également que l'élimination est fonction de la température. Humphrey (1978) observa dans les méristèmes des racines de l'hybride diploïde (*H. vulgare* x *H. bulbosum*) de grandes variations dans l'élimination des chromosomes d'une même plante et suggéra que la température affecte le taux d'élimination. Wheatley et Kasha (1982) observent des tissus à cellules binucléées et les mitoses des deux noyaux sont synchrones. Ces auteurs suggèrent que le cycle nucléaire n'a pas d'influence sur l'élimination des chromosomes. Celle-ci serait due à des différences entre les deux noyaux (Armstrong et Davidson, 1980, cités par Wheatley et Kasha, 1982).

5. - AVANTAGES ET INCONVENIENTS DE L'HAPLOÏDIE POUR LES PROGRAMMES DE SÉLECTION

Les principaux avantages et les étendues du potentiel d'application des haploïdes, résumés par Kasha et Reinbergs (1979), sont :

- l'obtention rapide des lignées homozygotes (fixation parfaite) ;
- la sélection plus facile puisqu'elle se fait sur des lignées pures et sur des microparcelles de plantes identiques génotypiquement ;
- la sélection efficace pour les caractères quantitatifs, lorsque l'héritabilité est faible et l'effet du milieu élevé, cependant, cet avantage n'est pas spécifique aux HD, mais aussi aux S.S.D ;
- la conservation totale de la variance génétique avant sélection et la possibilité d'utiliser les interactions génotype x milieu pour les variétés adaptées ;
- leur production à n'importe quel stade d'un programme d'amélioration, à partir de la F₁ jusqu'à la purification des sélections avancées (mais le gain de temps signalé ci-dessus se trouve réduit) ;
- la simplification de la génétique des caractères.

En outre, selon Snape et *al.* (1984), les HD ont des avantages théoriques et pratiques supérieurs aux générations conventionnelles, pour l'estimation du nombre effectif de gènes, car les effets de dominance et d'épistasie liés à la dominance sont absents. De plus, la ségrégation produite est simplifiée (Jensen, 1975).

Il est aussi possible, selon Powell et *al.* (1984), de faire un tri pour la résistance à l'oïdium au stade haploïde, avant le traitement à la colchicine. Cette procédure permet d'éliminer d'emblée les plantes sensibles à cette maladie.

Les inconvénients dans l'utilisation de plantes haploïdes se situent au niveau de la production. Il est d'abord difficile d'estimer le coût de production d'haploïdes par rapport à la production classique d'une variété, puisque la valeur du temps économisé dans l'obtention d'un nouveau cultivar n'est mesurable que quand le programme est réalisé. Ensuite, certaines espèces, comme le blé dur, sont récalcitrantes à la production de plantes haploïdes doublées androgénétiques (Hadwinger et Heberle-Bors, 1986, cités par Coumans et *al.* (1992). Les croisements intergénériques entre le blé dur et le maïs donnent des rendements faibles en nombre d'embryons, et en nombre de plantes issues de ces embryons (3 plantes pour 1652 fleurs pollinisées selon Coumans et *al.*, 1992). Cependant, des améliorations dans cette technique ont été réalisées depuis. Ainsi, le taux de plantes haploïdes pour 100 fleurs pollinisées passe de 2,06 (Sun et *al.* 1995) à 6,95 (Wang et *al.*, 1996) et même à une moyenne de 9,1 (Lefebvre et Devaux, 1996). Ces auteurs ont mis en évidence des différences génotypiques dans la production de plantes haploïdes.

Après une vingtaine d'années de pratique dans la production de plantes HD, Devaux (1995) apporte de nouvelles informations sur l'utilisation des HD dans les programmes de sélection. Il voit un avantage supplémentaire par rapport à la méthode pedigree. Alors que dans celle-ci le sélectionneur peut être induit en erreur en choisissant des plantes F₂ performantes à cause de l'effet hétérosis qui disparaît dans les générations suivantes, sur les lignées HD il échappe à cette erreur, car l'hétérosis non fixable n'y est plus présent. Le même auteur relève ensuite deux inconvénients qui lui sont apparus à mesure que les programmes de sélection avançaient. Le premier, c'est le manque de pression de sélection par le milieu sur des cultures de lignées HD. En effet, les lignées HD sont généralement testées sur deux ou trois ans, alors que les lignées, isolées à l'issue de culture sur une dizaine d'années par les méthodes de sélection classiques, sont soumises à des variations climatiques beaucoup plus importantes, et testées de manière plus efficace. Pour contourner ce défaut en années de culture, il faut diversifier géographiquement les stations d'essai. Le deuxième inconvénient s'est révélé, lorsque le cultivar fut sélectionné sur des lignées HD. La demande en grains, immédiate et importante de la part des exploitants, peut dépasser les réserves en grains de l'obteneur. Il faut donc prévoir certaines lignées comme candidates à devenir des cultivars, et les multiplier sur un laps de temps qui reste court.

Nous venons d'exposer, en nous basant sur les avis de trois auteurs, les avantages et inconvénients de l'exploitation des lignées HD. Malgré les réserves nombreuses et importantes, le bilan global des HD nous apparaît positif. Les HD sont maintenant un outil inestimable et incontournable dans les Maisons de Sélection.

6. – COMPARAISON DES LIGNEES PURES DE PLANTES HAPLOÏDES DOUBLEES ET CELLES OBTENUES PAR LA METHODE DE SELECTION CLASSIQUE CHEZ L'ORGE (GENEALOGIQUE, BULK, SSD)

Plusieurs auteurs ont comparé des populations de lignées d'orge haploïdes doublées à des populations de lignées issues du même matériel par sélection généalogique, S.S.D. et méthode "bulk".

Park et *al.* (1976), travaillant sur 52 lignées HD dérivées de deux croisements, sur des lignées pedigree et SSD, concluent qu'il n'y a pas de différences essentielles du point de vue performance au champ, entre les populations HD et les populations dérivées de méthodes conventionnelles. De la même façon, Reinbergs et *al.* (1976) ont montré que les lignées

homogènes et homozygotes formées par doublement des haploïdes ont d'aussi bonnes qualités agronomiques et un rendement aussi stable que les cultivars homologués créés par les méthodes classiques de sélection. Fedak (1976) ajoute qu'elles peuvent dépasser le rendement du cultivar témoin.

Song *et al.* (1978) ont trouvé que dans l'ensemble des croisements la population HD avait un rendement moyen en grains plus faible, mais une variation plus élevée parmi les lignées que celles issues de la population bulk, sans doute par un effet de sélection naturelle au niveau du bulk.

Turcotte *et al.* (1980) trouvent peu ou pas de différence entre les lignées pedigree et les lignées HD pour certains génotypes, mais beaucoup de différences pour d'autres génotypes. Ils concluent que les différences entre génotypes peuvent être attribuées à la méthode choisie de production de lignées et aux croisements.

Snape et Simpson (1981) posent le problème de l'effet du déséquilibre de liaison entre des gènes. Dans le cas de répulsion, le spectre complet de la variation génétique dans un croisement ne peut pas être réalisé parmi les HD précoces. Dans ce cas, la SSD est préférable à celle de l'haploïde doublé. L'inverse est attendu dans le cas de couplage. Cependant, Powell et Caligari (1986) ont obtenu les mêmes estimations de D (la variance génétique additive) dans les échantillons des deux méthodes (HD et SSD). Ces auteurs concluent que les HD provenant de F₁ et SSD sont deux méthodes aussi efficaces l'une que l'autre de production de lignées contenant des recombinants désirables. Dans une autre expérience, Caligari *et al.* (1987) posent le problème des liaisons entre gènes lorsque les HD sont extraits des plantes F₁. Les moyennes des lignées HD et SSD étaient différentes pour un nombre de caractères et étaient différentes de la valeur moyenne des parents. Ces différences seraient dues à la présence d'épistasie entre gènes liés. De plus, la méthode HD_{F1} tend à préserver les linkages existants, d'où avec couplage, une proportion plus élevée de lignées dépassant le meilleur parent est obtenue.

En conclusion à notre analyse bibliographique, nous relevons que, parmi les combinaisons génomiques entre *H. vulgare*, 2 x ou 4 x, et *H. bulbosum*, 2 x ou 4 x, le croisement entre les deux cytotypes diploïdes s'est imposé, vu le rendement en plantes HD produites. Des améliorations sur ce croisement ont été proposées portant sur les facteurs de l'environnement (température, saison) et le choix de génotypes appropriés de *H. bulbosum*.

II - LA PRODUCTION DE PLANTES HAPLOÏDES ET HAPLOÏDES DOUBLES PAR LA METHODE BULBOSUM.

Nous produisons les plantes haploïdes et haploïdes doublées par l'intermédiaire du croisement interspécifique *H. vulgare* x *H. bulbosum*. Aussi la technique a-t-elle été dénommée par un des parents du croisement, méthode *bulbosum*. Nous décrivons la méthode puis nous présentons nos données de production.

1 – LA METHODE *BULBOSUM*

1.1. – Réalisation de la plante haploïde

1.1.1. - *Castration et pollinisation*

Les épis, encore dans la gaine, sont dégainés et castrés (planche I, figure 1). On coupe la partie supérieure des épillets et on retire les anthères de couleur verte tirant vers le jaune. Lorsque l'épi est long, on coupe la partie supérieure de l'épi. Les épis castrés sont ensachés.

Pour des raisons d'emplacement des tableaux, dans la mesure du possible, au verso d'une page, nous avons dû laisser celle-ci et quelques autres, dans la suite, sans texte.

Planche I

Figure 1 : Production de plantes haploïdes d'orge. Epis d'*Hordeum vulgare* CM 67 x Motan castrés, non encore pollinisés, fin avril 1989.

Figure 2 : Essai 1990, F₁, F₂ et HD du croisement CM 67 x Motan



Lorsque les fleurs sont béantes (ce qui se produit généralement 4 à 5 jours après la castration), on apporte du pollen de *H. bulbosum* qui est récolté dans un sachet en papier cellophane.

Une fois la pollinisation faite, on ensache de nouveau et on met une étiquette portant le numéro de la F₁, le code de *H. bulbosum*, ainsi que la date de pollinisation.

Le deuxième et le troisième jour on pulvérise une solution d'acide gibbérélique à 75 ppm qui a pour but de favoriser la formation du grain, de stimuler la taille de l'embryon et d'augmenter le nombre de plantes haploïdes (Lartner et Enns, 1960, cités par Adamski, 1979). Les épis sont de nouveau ensachés avec des sachets opaques.

1.1.2. - Mise en culture des embryons

Lorsque la couleur du fruit passe du vert au jaune, les épis sont prêts pour la récolte (Jensen, 1975). En même temps que nous récoltons les caryopses, nous notons leur nombre et le nombre de caryopses non formés.

Les grains sont désinfectés avec de l'eau de Javel, à 12 %, pendant 5 mn, puis rincés à l'eau stérile.

La dissection des grains se fait sous loupe binoculaire dans une hotte stérile, tous les embryons sont mis en culture sur milieu nutritif en boîte de Pétri. Les boîtes sont fermées à l'aide de papier cellophré et portent le numéro de la F₁, le code de *H. bulbosum*, ainsi que la date de mise en culture. Elles sont mises à l'obscurité dans une étuve à 22°C pour éviter une germination précoce (Jensen, 1975).

Lorsque les plantules ont 1cm de hauteur, elles sont sorties de l'étuve pour être mise dans une salle de culture. Un repiquage est effectué en tube, lorsque les plantes sont au stade 1 à 2 feuilles. Au stade 3 feuilles, un deuxième repiquage est effectué en pots.

1.1.3. - Milieu utilisé pour la culture d'embryons

Le milieu utilisé est le milieu "Bacto Orchid Agar" composé par nous même. La composition de ce milieu est la suivante (cette composition m'a été communiquée par Mme. Chueca au laboratoire de Cytogénétique de l'INRA de Versailles) :

| | |
|--|------------|
| - Ca(NO ₃) ₂ | 1,000 g/l |
| - KH ₂ PO ₄ | 0,250 g/l |
| - MgSO ₄ | 0,250 g/l |
| -(NH ₄) ₂ SO ₄ | 0,500 g/l |
| - Fe SO ₄ | 0,025 g/l |
| - Mn SO ₄ | 0,075 g/l |
| - saccharose..... | 20,000 g/l |
| - bacto - agar..... | 15,000 g/l |

La quantité de bacto-agar a été de 10 g/l, au lieu de 15 g/l préconisé. Ce milieu a été choisi en fonction des produits existants au laboratoire d'amélioration des plantes de l'I.N.A. d'Alger.

1.2- **Doublement du nombre de chromosomes à la colchicine de plantes haploïdes**

Le doublement à la colchicine est fait lorsque les plantes sont au stade 3 talles (Jensen, 1976, Ho et al., 1978b, cités par Devaux, 1983). Les plantes sont dépotées, puis lavées à l'eau, les racines coupées à 1,5 cm et on effectue une incision à la base de chaque talle (Morgan, 1976, cité par Devaux, 1983). Ces plantes sont ensuite plongées sur une hauteur de 5 cm dans

une solution de colchicine à 0,05 % avec une goutte de shampooing (car nous ne disposions pas de tween 20, recommandé par Thiebaut et Kasha, 1978, cités par Devaux, 1983) pour permettre la pénétration de la solution dans la plante. Nous regrettons de n'avoir pas pu utiliser le DMSO, composé qui augmente la perméabilité des membranes et accroît significativement le taux de doublement (Jensen, 1974 cité par Devaux, 1983), celui-ci n'était pas disponible dans notre laboratoire.

Au bout de 5 heures de traitement, les plantes sont retirées de la solution et rincées à l'eau ordinaire, puis repiquées dans des pots. Au stade de 3 talles, nous pouvons distinguer par des caractères morphologiques les plantes haploïdes (V) des plantes hybrides (VB). Ces dernières ont une morphologie de plantes *bulbosum* par le limbe des feuilles plus étroit et par la présence de longs poils blancs sur les gaines des feuilles (Lange, 1971a et Devaux 1983).

1.3. – Récolte des grains sur les plantes haploïdes doublées

La colchicine agit sur les mitoses du bourgeon situé à la base des talles. Les cellules méristématiques ayant leur nombre chromosomique doublé, donnent des axes feuillés et des racines adventives diploïdes puis des épis à fleurs fertiles. Sur ces épis, nous cueillons les grains par plante HD. Ceux-ci forment les têtes de lignées.

2 – LES DONNEES DE PRODUCTION

Nous avons fait deux essais de production, le premier sur la saison 85/86, et le deuxième sur la saison 88/89. Le premier essai a abouti à produire essentiellement des hybrides interspécifiques *vulgare x bulbosum* (VB), mais ayant changé de clones *bulbosum*, le deuxième a été concluant, puisque nous avons obtenu 78 plantes haploïdes doublées, têtes de 78 lignées différentes.

Le premier essai nous a servi à nous familiariser avec la technique, ce qui explique aussi le meilleur résultat du 2^{ème} essai. Malgré l'échec, vu de notre point de vue, production d'HD, le premier essai nous a apporté des informations génétiques sur le croisement interspécifique *vulgare x bulbosum*. Aussi allons-nous décrire les deux essais en présentant successivement, pour chacun, le matériel *vulgare*, puis *bulbosum*, les caractéristiques de morphologie, de fréquences et de taux des caryopses, embryons et plantes obtenus aux différentes étapes de la méthode *bulbosum*, et nous en dégagerons des facteurs génétiques et environnementaux de la nouaison sous l'aspect formation de l'embryon qui constitue l'étape cruciale de la méthode dont dépend la réussite de la production des plantes haploïdes doublées.

2.1 – L'essai 1985/1986 : l'obtention d'hybrides *vulgare x bulbosum* par l'utilisation de pollinisateurs *bulbosum* principalement tétraploïdes à partir de plantes F_1 de génotype varié.

2.1.1. – Le matériel

2.1.1.1. - Vulgare

Le matériel *vulgare* est constitué de 17 F_1 choisi parmi les 56 F_1 du diallèle que nous utilisons pour le travail génétique de la thèse. Les parents de ces F_1 sont les cultivars Jaidor (3), Motan (6), Beecher (13), California Mariout 67 (14), Prato (15), Apizaco (16), Ensenada (17) et Saïda (18) (pour l'origine de ces cultivars, voir tableau 2.8, p. 54). Les 17 F_1 sont 3/13, 3/14, 3/18, 6/14, 6/16, 6/18, 13/3, 13/6, 14/6, 14/13, 14/15, 15/3, 16/15, 16/18, 17/13, 17/14, 18/13.

2.1.1.2. - *Bulbosum*

Les clones *bulbosum* proviennent de la collection Y. Cauderon de l'INRA de Versailles avec en plus un clone reçu de Montpellier. Ce sont 16 clones à majorité tétraploïdes (12 clones). Nous en donnons la liste avec leur code, leur niveau de ploïdie et leur origine, dans le tableau 1.3.

Tableau 1.3 : Clones d'*Hordeum bulbosum* utilisés dans l'essai 85/86

| Code utilisé par <i>Cauderon</i> | nombre de chromosomes 2n | Origine |
|-------------------------------------|-----------------------------|--|
| 1920 | 14 | Australie (Canberra) |
| 1822 | 14 | probablement matériel de Jensen (reçu du P.B.I.) |
| 1830 | 14 | collecte nature (Madame Deschatres-Bernard) |
| 1833 | 28 | Clermont - Ferrand |
| 1835 | 28 | Clermont - Ferrand |
| 1837 | 28 | Pays - bas (Wageningen) |
| 1839 | 14 | Uruguay |
| 1840 | 28 | Pays - bas (Wageningen) |
| 1842 | 28 | Pays - bas (Wageningen) |
| 1844 | 28 | Pays - bas (Wageningen) |
| 1847 | 28 | Pays - bas (Wageningen) |
| 1850 | 28 | Pays - bas (Wageningen) |
| 1854 | 28 | Syrie (collecte E. Picard) |
| 1858 | 28 | Syrie (collecte E. Picard) |
| 1869 | 28 | Syrie (collecte E. Picard) |
| Montp. | 28 | reçu de Montpellier |

La culture de ce matériel et les croisements entre cultivars et entre les F₁ et les *bulbosum* se font au champ.

2.1.2. - Déroulement de l'expérimentation et conditions de culture

Les croisements F₁ x clones *bulbosum* sont faits au hasard suivant la disponibilité des deux parents par leur stade de floraison, les stigmates étalés pour les F₁, l'anthèse pour les clones. Les opérations de pollinisation se déroulent du début de la deuxième décennie d'avril à la fin de la première décennie de mai 1986. Les caryopses sont récoltés entre 14 et 19 jours après la pollinisation. Ils sont immédiatement disséqués pour prélever les embryons, mais vu leur nombre, nous avons dû mettre un lot en attente dans l'eau au réfrigérateur. Les embryons sont déposés par 6 à 8 sur milieu agar en boîte de Pétri. La croissance des embryons en plantules de 1 cm sur milieu agar se fait jusqu'en juin dans une étuve à 16°C. Puis quand les trois feuilles sont bien formées, les plantes sont extraites de l'agar, mises en pots, dits « fertil pots » dans un terreau obtenu par dissolution de pastilles, et les pots sont disposés dans une salle de culture non régulée, ni pour la température, ni pour la photopériode puis en serre climatisée à 16°C. Le stade de plantes à trois talles est atteint vers février 1987, et nous procédons à l'opération trempage de plantes dans la solution de colchicine à 0,05 %. Ces plantes sont ensuite repiquées en pots contenant la terre fraîche du jardin, et sont remises dans la serre climatisée. Les épis sont apparus en mai 1987, et en juin nous récoltons les grains sur l'unique plante haploïdes doublée comme nous le verrons plus loin.

2.1.3. - Les caractéristiques en fréquences et en taux de l'expérimentation

Nous présentons les caractéristiques en deux temps, d'abord sous forme de bilan général, puis en fonction du parent femelle F₁ et du pollinisateur *bulbosum*, et enfin en fonction de la période de pollinisation.

Tableau 1.4 : Bilan d'ensemble de l'haplodiploïdisation sur les deux essais

| caractéristiques | Nombre et % dans les essais | |
|--|-----------------------------|---------------|
| | 1985/1986 | 1988/1989 |
| Nombre d'épis aux fleurs castrées et pollinisées | 66 | 133 |
| Nombre de fleurs pollinisées | 4554 | 6312 |
| Nombre moyen de fleurs pollinisées par épi | 69 | 47,50 |
| Nombre de caryopses formés | 1301 | 2727 |
| Taux de nouaison | 28,57 | 43,20 |
| Nombre d'embryons mis en culture | | 1973 |
| - % par rapport aux fleurs | pas de relevés | 31,24 |
| - % par rapport aux caryopses | | 72,35 |
| Nombre de plantules obtenues en boîte de Pétri | | 660 |
| - % par rapport au nombre de caryopses | pas de relevés | 24,20 |
| - % par rapport au nombre de plantes pollinisées | | 10,46 |
| Nombre de plantes perdues au repiquage en tube | pas de relevés | 223 (33,79 %) |
| Nombre de plantes à 3 feuilles en tube | 106 | 437 |
| - % par rapport au nombre de fleurs | 2,32 | 6,92 |
| - % par rapport au nombre de caryopses | 8,15 | 16,02 |
| - % par rapport au nombre d'embryons | - | 22,15 |
| Nombre de plantes à 3 feuilles perdues durant la croissance | 70 (66 %) | 143 (32,72 %) |
| Nombre de plantes vertes (traitées à la colchicine) | | |
| - au stade 2 – 3 talles | | |
| - haploïdes | 1 | |
| - hybrides | 35 | |
| - au stade 4 – 5 feuilles | | |
| - haploïdes | | 290 |
| - hybrides | | 4 |
| Efficacité à l'haploïdie (nombre d'haploïdes / fleurs pollinisées) | 0,77 | 4,59 |
| - % des plantes haploïdes sur le total des plantes produites | 2,78 | 98,64 |
| Résultat après le traitement à la colchicine | | |
| a) en fréquences | | |
| - plantes haploïdes n'ayant pas réagi au traitement | 0 | 212 |
| - plantes HD | 1 | 78 |
| - plantes hybrides VB | 35 | 4 |
| b) en % par rapport aux plantes traitées: | | |
| - plantes haploïdes n'ayant pas réagi au traitement | 0 | 72,11 |
| - plantes HD | 2,78 | 26,53 |
| - plantes hybrides (VB) | 97,22 | 1,36 |
| Bilan pour les plantes HD en % par rapport aux nombres de | Sans | |
| - plantes à 3 feuilles | signification | 17,85 |
| - embryons | pour l'essai. | 3,95 |
| - caryopses | | 2,86 |
| - fleurs pollinisées | | 1,23 |
| Bilan pour les plantes hybrides en % par rapport au nombre de plantes à 3 feuilles | 33,02 | 0,60 |

2.1.3.1. - Les caractéristiques générales (tableau 1.4)

Les données portées dans le tableau 1.4 (essai 1985/1986) nous suggèrent les commentaires suivants. Le taux de nouaison, très faible, 28,57 %, reflète l'incompatibilité de fécondation entre le pollen *bulbosum* et la plante *vulgare*. Le nombre de plantes à 3 feuilles est une bonne estimation du nombre de caryopses à embryon viable, apte à se développer et à germer. Le taux de 8,15 % de plantes à 3 feuilles par rapport au nombre de caryopses formés indique donc que la nouaison est défectueuse. Malgré cet effet, les 106 plantes à 3 feuilles obtenues auraient été suffisantes pour notre expérimentation génétique, si nous avions pu les mener jusqu'au stade à trois talles. Or à ce stade, nous n'en avons plus que 36. Les 70 plantes perdues proviennent d'embryons mis en culture entre le 7 et le 28 mai 1986. Comme nous l'avons décrit plus haut, elles sont sorties de l'étuve à 16°C et déposées dans la salle de culture à température ambiante de 27°C, et à la forte lumière du jour. Les plantes n'ont pas résisté à ces changements, et nous les avons perdues. Les 36 plantes, qui sont devenues plantes à trois talles, proviennent toutes d'embryons prélevés dans les caryopses noués durant la première partie de la saison de nouaison ; de ce fait, elles ont échappé aux températures élevées de la salle de culture. Les 36 plantes constituent le nombre de plantes produites dans cet essai, 35 plantes sont des hybrides VB et une plante est une haploïde doublée.

L'unique plante haploïde doublée est issue du croisement [Motan x CM 67 (6/14)] x *bulbosum* clone 1822 (2 x) ; sur le nombre de plantes vertes, le taux est évidemment très bas (2,78 %). Les 35 hybrides VB ont comme parent femelle, de manière aléatoire, les différentes F₁, et comme parent mâle en majorité des clones *bulbosum* tétraploïdes. Ces hybrides sont donc triploïdes. Nous les avons bien reconnus comme hybrides au stade de trois talles, avant l'opération colchicine, mais nous les avons pourtant soumise à l'opération colchicine et gardés jusqu'au stade épiaison dans l'espoir de les voir perdre les chromosomes *bulbosum*, mais les plantes sont restées telles qu'elles. Nous vérifions ainsi la constatation de Lange (1971 a) que les triploïdes VBB contenant un génome *vulgare* et deux génomes *bulbosum* sont stables durant leur croissance.

2.1.3.2. - L'effet distinct de deux parents sur les taux de nouaison et la formation des plantes à trois feuilles

Connaissant le bilan de cet essai, nous savons que nous analysons l'aptitude des parents à donner des hybrides *vulgare* x *bulbosum* (VB).

- Effet du génotype *vulgare* (tableaux 1.5 et 1.6)

Les données sont présentées, dans le tableau 1.5. Les taux de nouaison sont très hétérogènes variant de 0 à 54 %. Il en est de même du pourcentage des plantes à trois feuilles sur le nombre de caryopse formés, tout en étant moins étalés, de 0 à 28 % (si on excepte le croisement 17/13). Comme les deux pourcentages ne sont pas proportionnels (par exemple, le génotype 14/6 présente un taux de nouaison parmi les plus élevés, mais il ne produit aucune plante), le % de plantes à trois feuilles sur le nombre de fleurs pollinisées donne une bonne estimation du nombre d'embryons viables et aptes à se développer, produits par les différents génotypes *vulgare*. Pour cette aptitude, les génotypes 14/13 (10 %) et 14/15 (7 %) se détachent des autres génotypes, et 5 génotypes *vulgare* sont incompatibles avec *bulbosum*.

Tableau 1.5 : Effets des différents génotypes de *H. vulgare* sur le % du nombre de grains obtenus et le % du nombre de plantes (clones de *H. bulbosum* confondus)

| génotypes <i>H. vulgare</i> | fleurs pollinisées | grains | taux de nouaison | nombre de plantes haploïdes ou hybrides au stade 3 feuilles | % des plantes haploïdes ou hybrides / nbre caryopes | Nombre de plantes à 3 feuilles / nombre de fleurs pollinisées |
|--------------------------------|-----------------------|--------|---------------------|--|--|---|
| 3/13 | 103 | 10 | 9,71 | 0 | 0,00 | 0,00 |
| 3/14 | 96 | 34 | 35,41 | 4 | 11,76 | 4,17 |
| 3/18 | 808 | 181 | 22,40 | 9 | 4,97 | 1,11 |
| 6/14 | 491 | 114 | 23,21 | 16* | 14,03 | 3,26 |
| 6/16 | 147 | 56 | 38,09 | 7 | 12,50 | 4,76 |
| 6/18 | 653 | 350 | 53,59 | 31 | 8,85 | 4,75 |
| 13/3 | 42 | 0 | 0,00 | 0 | 0,00 | 0,00 |
| 13/6 | 57 | 0 | 0,00 | 0 | 0,00 | 0,00 |
| 14/6 | 216 | 79 | 36,57 | 0 | 0,00 | 0,00 |
| 14/13 | 68 | 10 | 14,70 | 2 | 20,00 | 9,94 |
| 14/15 | 194 | 50 | 25,77 | 14 | 28,00 | 7,22 |
| 15/3 | 416 | 73 | 17,54 | 2 | 2,73 | 0,48 |
| 16/15 | 471 | 85 | 18,04 | 2 | 2,35 | 0,42 |
| 16/18 | 258 | 97 | 37,59 | 8 | 8,24 | 3,09 |
| 17/13 | 128 | 2 | 1,56 | 1 | 50,0** | 50,0** |
| 17/14 | 149 | 55 | 3,91 | 0 | 0,00 | 0,00 |
| 18/13 | 257 | 105 | 4,85 | 10 | 9,52 | 3,89 |
| total | 4554 | 1301 | 2,57 | 106 | 8,15 | |

* = dont une plante haploïde *vulgare*,

** = % qui ne peut pas être pris en compte, vu l'effectif de grains.

Le hasard des croisements a voulu, cependant, que nous ayons quelques génotypes *vulgare* croisés avec le même clone *bulbosum* 4x dans la même période de pollinisation. Ce fut le cas des génotypes 14/15, 15/3, 16/18 et 18/13 avec le clone 1835 (4x), des génotypes 6/16, 14/15 et 15/3 avec le clone 1840 (4x), et des génotypes 3/14, 6/14 et 16/18 avec le clone 1869 (4x). Il nous est ainsi possible de faire des comparaisons des taux de nouaison entre génotypes *vulgare*. Les données sont présentées dans le tableau 1.6. Le test G révèle une hétérogénéité significative élevée entre les génotypes *vulgare* pour les clones 1835 et 1840, et faible pour le clone 1869 (4x). Il en résulte un classement entre génotypes *vulgare* dans l'aptitude à la nouaison pour un pollinisateur donné.

Tableau 1.6 : Test d'indépendance de l'effet du génotype de *Hordeum vulgare* sur le taux de nouaison (période de pollinisation et clones de *H. bulbosum* identiques)

| Périodes de pollinisation | génotypes comparés | G | ddl | classement pour les taux de nouaison | La moyenne du génotype <i>vulgare</i> dans l'essai |
|------------------------------------|--------------------------------------|-----------|-----|--|--|
| 3 ^{ème} décade d'avril | <u>croisements avec le 1835 (4x)</u> | | | | |
| | 14/15, 15/3, 16/18 et 18/13 | 22,862*** | 3 | 18/13 : 74,07 % a | 40,85 |
| | 16/18 et 18/13 | 0,402 ns | 1 | 16/18 : 68,75 % a | 37,59 |
| | 14/15 et 16/18 | 8,768** | 1 | 15/3 : 43,75 % b | 17,54 |
| | 15/3 et 16/18 | 10,410*** | 1 | 14/15 : 42,37 % b | 25,77 |
| 3 ^{ème} décade d'avril | <u>croisements avec le 1840 (4x)</u> | | | | |
| | 6/16, 14/15 et 15/3 | 38,730*** | 2 | 6/16 : 50,94 % a | 38,09 |
| | 6/16 et 14/15 | 2,450 ns | 1 | 14/15 : 36,50 % a | 25,77 |
| | 14/15 et 15/3 | 46,420*** | 1 | 15/3 : 1,49 % b | 17,54 |
| 1 ^{ère} décade de mai | <u>croisements avec le 1869 (4x)</u> | | | | |
| | 3/14 6/14 et 16/18 | 7,998* | 2 | 3.14 : 35,41 % a | 35,41 |
| | 3/14 et 16/18 | 0,012 ns | 1 | 16/18 : 34,75 % a | 37,59 |
| | 6/14 et 16/18 | 5,466 | 1 | 6/14 : 24,20 % b | 23,21 |

- Effet du génotype de *bulbosum* par son niveau de ploïdie

Les données sont présentées dans le tableau 1.7, et nous ne disposons que des relevés des taux de nouaison. Sachant qu'ils ne traduisent pas un taux équivalent d'embryons viables, il n'est pas possible de dégager des aptitudes à donner des embryons pour un niveau de ploïdie donné. Cette restriction étant faite, nous voyons qu'un génotype tétraploïde peut donner un bon taux de nouaison (le 1833 avec 36 %) et un faible taux (le 1837 avec 4 %), et il en est de même pour les clones diploïdes (le 1820 avec 38 % et le 1830 avec 8 %). Mais globalement en considérant les moyennes des taux par niveau de ploïdie, 18,52 % pour les diploïdes et 29,54 % pour les tétraploïdes, il y a un avantage pour les tétraploïdes qui se vérifie par le test G (tableau 1.9). Il est possible que sous cet avantage nous décelions une meilleure vigueur des embryons triploïdes (VBB) sur les embryons diploïdes (VB) devenant haploïdes (V). Il en découle qu'en utilisant uniquement le pollinisateur diploïde, nous éliminons cette concurrence.

Le hasard des pollinisations a fait que, durant la 3^{ème} décennie d'avril, nous avons fait des croisements plus nombreux avec quatre clones, trois, tétraploïdes, 1835, 1842 et 1869, et un diploïde, 1820. Il est donc possible de comparer leur effet sur le taux de nouaison, sur une courte période de pollinisation (nous verrons, au paragraphe suivant 2.1.3.3. que cette période est la meilleure). Les résultats du test G sont présentés dans le tableau 1.8. Nous voyons qu'il est possible de classer les clones suivant leur taux de nouaison. Mais ce classement ne met pas le clone diploïde comme le moins bon à donner des caryopses. Cependant, ce résultat reste concordant avec les moyennes des deux niveaux de ploïdie (tableau 1.9), au vu de la grande variabilité des taux de nouaison (tableau 1.7)

Tableau 1.7 : Effet des différents clones d'*H. bulbosum* sur le taux de nouaison (toutes lignées d'*H. vulgare* confondues)

| <i>H. bulbosum</i> | nombre de fleurs pollinisées | nombre de caryopses obtenus | % de nouaison |
|--------------------|------------------------------|-----------------------------|---------------|
| 1822 (2x) | 140 | 32* | 22,85 |
| 1820 (2x) | 37 | 14 | 37,83 |
| 1830 (2x) | 60 | 5 | 8,33 |
| 1839 (2x) | 168 | 24 | 14,28 |
| 1833 (4x) | 58 | 21 | 36,20 |
| 1835 (4x) | 342 | 162 | 47,36 |
| 1837 (4x) | 113 | 5 | 4,42 |
| 1840 (4x) | 329 | 53 | 16,10 |
| 1842 (4x) | 186 | 28 | 22,58 |
| 1844 (4x) | 51 | 5 | 9,80 |
| 1847 (4x) | 63 | 2 | 3,17 |
| 1850 (4x) | 50 | 28 | 56,00 |
| 1854 (4x) | 169 | 73 | 43,19 |
| 1858 (4x) | 72 | 25 | 34,72 |
| 1869 (4x) | 2560** | 814 | 31,79 |
| Monpt. (4x) | 156 | 10 | 6,41 |
| totaux | 4554 | 1301 | 28,56 |

* = dont un grain donnera la plante haploïde,

** = le grand nombre de fleurs pollinisées par ce clone est dû à sa bonne production pollinique.

Tableau 1.8 : Effet du parent *bulbosum* sur taux de nouaison, test d'indépendance

| Période de pollinisation | Génotypes comparés | G | ddl | classement des taux de nouaison |
|-----------------------------------|--------------------------|-----------|-----|---------------------------------|
| 3 ^{ème} décennie d'Avril | 1869, 1842, 1820 et 1835 | 75,394*** | 3 | 1835 : 74,07 % a |
| | 1869 et 1835 | 0,354 ns | 1 | 1869 : 68,75 % a |
| | 1869 et 1820 | 8,174** | 1 | 1820 : 37,83 % b |
| | 1820 et 1842 | 7,981** | 1 | 1842 : 15,25 % c |

Tableau 1.9 : Effet du degré de ploïdie des génotypes d'*Hordeum bulbosum* sur le taux de nouaison

| génotypes | nombre de caryopses | sans caryopses | fleurs pollinisées | G | classement |
|-----------|---------------------|----------------|--------------------|--------|-----------------|
| 2 x | 75 | 330 | 405 | 10,33* | 4 x : 29,54 % a |
| 4 x | 1226 | 2923 | 4149 | | 2x : 18,51 % b |
| total | 1301 | 3253 | 4554 | | |

2.1.3.3. - L'effet environnemental : les périodes de pollinisation favorables à la nouaison (tableaux 1.10 et 1.11)

Les données sont portées dans le tableau 1.10 sous forme fréquences, en vue du test G, et %, en vue de leur classification. Le temps de pollinisation est découpé en trois décades, 2^{ème} et 3^{ème} décade d'avril et 1^{ère} décade de mai. Les tests statistiques (tableau 1.11) mettent en évidence que la période optimale de pollinisation se situe dans la 2^{ème} moitié du mois d'avril.

Tableau 1.10 : Effet de la période de pollinisation sur le taux de nouaison

| Périodes | caryopses | sans caryopses | total | % |
|-------------------|-----------|----------------|-------|-------|
| 2ème décade avril | 214 | 709 | 923 | 23,18 |
| 3ème décade avril | 326 | 749 | 1075 | 30,32 |
| 1ère décade mai | 761 | 1795 | 2556 | 29,77 |
| total | 1301 | 3253 | 4554 | |

Tableau 1.11 : Test d'indépendance

| périodes comparées | G | ddl | $\chi^2_{0,999}$ | classement |
|--------------------------|------------|-----|------------------|----------------|
| 3 décades | 17,0768*** | 2 | 13,8 | 3ème d. A. "a" |
| 3ème d. A. et 1ère d. M. | 0,1099 ns | 1 | 10,8 | 1ère d. M. "a" |
| 1ère d. M. et 2ème d. A. | 14,9647*** | 1 | 10,8 | 2ème d. A. "b" |

d. A = décade d'avril
d. M = décade de mai

2.1.4. – Conclusion

Les composantes expérimentales de l'essai 1985/1986 sont le grand nombre de génotypes *vulgare* et de clones *bulbosum* dans les croisements interspécifiques, l'utilisation de clones principalement tétraploïdes et l'obtention de plantes hybrides VB et VBB. Cet essai nous démontre donc que la barrière d'incompatibilité *vulgare* – *bulbosum* est levée, sinon amoindrie, à la suite de la culture d'embryons, et que dans l'optique de la production HD, nous devons absolument abandonner les clones tétraploïdes de *bulbosum*.

2.2. – L'essai 1988/1989 : obtention de plantes haploïdes doublées par l'utilisation de clones *bulbosum* diploïdes à partir de plantes F₁ de génotype [Motan x CM 67].

2.2.1. – Le matériel

Pour assurer nos chances de production HD, nous restreignons notre programme de croisement F₁ *vulgare* x *bulbosum* à une seule F₁, Motan x CM 67 (6/14). Par ce choix, nous reprenons la F₁ qui constitue notre seul succès dans l'essai précédent. Comme pollinisateur, nous utilisons les trois clones diploïdes qui nous ont été donnés par Y. Henry du laboratoire Amélioration des plantes de l'Université Paris XI (tableau 1.12). Ceux-ci se sont révélés avoir des temps de floraison légèrement décalés ; l'ordre du clone précoce au clone tardif est le suivant : clone Jensen (J), clone Pickering (P) et clone Kasha (K).

Comme dans l'essai précédent, la culture des deux parents et les croisements se font au champ.

Tableau 1.12 : Clones de *Hordeum bulbosum* utilisés en 1988 / 1989

| Code | Provenance | Origine | nombre de chromosomes 2n |
|------|------------|------------|--------------------------|
| J | Jensen | Danemark | 14 |
| P | Pickering | Angleterre | 14 |
| K | Kasha | Canada | 14 |

2.2.2. – Déroulement de l'expérimentation :

Dans la manière d'utiliser les trois clones *bulbosum*, nous avons une contrainte, tenir compte du temps de floraison, et un but, exploiter l'aptitude des clones à donner des haploïdes. En effet, Devaux (1983 et 1991) et Pickering et Devaux (1992) préconisent un mélange de pollen de différents clones *bulbosum*, et ils démontrent que des pollens mélangés de clones différents à la pollinisation ont des effets complémentaires avec différents génotypes *vulgare* d'un programme de production HD. Dans notre cas, n'ayant qu'un génotype *vulgare*, nous voulions exploiter l'aptitude à l'haploïdie des trois clones face à ce seul génotype. Mais vu le temps de pollinisation trop court pour un seul expérimentateur, nous n'avons pas réalisé toutes les pollinisations de pollen isolé de clone et toutes les combinaisons de pollen. Nous avons utilisé les pollens suivant : J, J + P, et J + P + K, et à cause des temps d'anthèse des clones, aux périodes suivantes : J, du 10 au 30 avril, J + P, du 20 au 30 avril, et J + P + K, du 1^{er} au 10 mai.

Les embryons extraits de caryopses sont mis par deux en boîte de Pétri pour minimiser les pertes si les boîtes sont défectueuses.

Par rapport à l'essai précédent, nous avons eu moins de perte au repiquage des plantes à 3 feuilles (32,72 %), en "fertil pot" dans la salle de culture, et nous avons dû les laisser à cet endroit pendant toute la croissance, car la serre dont nous disposions au premier essai n'était plus fonctionnelle. A cause de cet inconvénient nous avons dû répondre à une situation inédite que ne signalent pas les auteurs : les plantes à trois feuilles en pot, au lieu de taller, ont monté comme si elles allaient à épiaison. Craignant que cela arrive, nous avons procédé à l'opération colchicine au stade de plantes de 4 à 5 feuilles en juillet 1989, et nous en disposions de 294, toutes des plantes haploïdes, à l'exception de quatre. Le bilan de l'essai était prometteur. Malheureusement, nous avons été confrontés à la mauvaise qualité de la colchicine, parce que trop ancienne et périmée : 72 % des plantes sont allées en épiaison sans produire de caryopses ; ces plantes sont donc restées haploïdes et le traitement à la colchicine n'a eu aucun effet sur elles. Finalement nous avons obtenu 78 plantes haploïdes doublées et 4 hybrides VB, restés diploïdes, et sur les HD, nous avons récolté les grains de septembre 1989 à juin 1990. Ces grains récoltés par plante HD formant les 78 têtes de lignées.

2.2.3. – Les caractéristiques en fréquences et en taux de l'expérimentation

Nous donnons d'abord un bilan chiffré des différentes étapes de la production, puis nous testons l'effet du pollinisateur et du moment de la pollinisation.

2.2.3.1. – Caractéristiques générales (tableau 1.4, essai 1988/1989), p. 23)

Dans cet essai, nous avons porté notre attention sur le développement des embryons en culture. Leur nombre s'élève à 1973 (tableau 1.4, p. 23). Il donne, rapporté au nombre de caryopses, un pourcentage de 72. Celui-ci est très élevé comparé à celui des auteurs. Par exemple Devaux et *al.* (1992) donnent pour 200 génotypes des pourcentages moyens plus faibles, variant entre 16 et 27 %. La différence entre les deux données provient du fait que ces auteurs ne mettent en culture que les embryons différenciés. Nous-mêmes, nous n'avons pas

fait de tri, au moment de leur mise en culture, entre embryons différenciés sur lesquels la gemmule est visible, et embryons indifférenciés, de forme globulaire, où on ne distingue pas l'axe tigelle - radicule et le cotylédon. Par économie de temps, nous avons mis en culture tous les embryons que nous avons réussi à extraire des caryopses.

Cependant le tri entre embryons va se faire naturellement durant leur développement ; le nombre de plantules obtenues en boîte de Pétri, 660, est ainsi une bonne estimation du nombre d'embryons différenciés dans le caryopses. Ce nombre rapporté aux nombres de caryopses donne un pourcentage de 24,20, valeur qui rentre bien dans l'intervalle de variation de Devaux *et al.* (1992). Rapporté au nombre de fleurs pollinisées, il donne un pourcentage de 10,46 %, qui pourrait être équivalent au pourcentage d'embryons différenciés par fleurs pollinisées.

Nous avons analysé en détail les différentes morphologies possibles de développement d'embryons en boîte de Pétri (tableau 1.13, les deux colonnes de droite). Nous avons observé des embryons qui s'arrêtent de croître, ou qui donnent une racine, ou des embryons qui prennent l'aspect d'un cal, avec parfois une racine, ou des plantules albinos, ou enfin des plantules vertes. Ce sont les embryons en arrêt de développement (35,99 %) et heureusement ceux qui donnent une plantule verte (33,45 %) qui sont les plus fréquents.

En transplantant ces plantules en tube, nous en perdons 223 et 437 (tableau 1.4 p.23) arrivent au stade de plantes à trois feuilles. Ces dernières, durant leur croissance en "fertil pots", subissent encore une perte de 32,72 %. Elle reste importante, cependant moins élevée que dans l'essai précédent, parce que nous avons disposé d'une salle de culture climatisée avec températures variant entre 22°C, en avril, à 27°C, en août et photopériode de 16 heures. Nous disposons ainsi de 294 plantes vertes, 290 haploïdes et 4 hybrides (VB). Bien qu'elles n'aient pas tallé, nous considérons les 290 plantes équivalentes à des plantes adultes vertes. L'efficacité à l'haploïdie du croisement interspécifique s'élève ainsi à 4.59 % (tableau 1.4).

Tableau 1.13 : Catégories de développement embryonnaire et leur nombre et pourcentage par rapport au nombre d'embryons mis en culture selon les pollinisateurs

| Catégories de développement embryonnaire | Pollinisateurs | | | | | | Pollinisateurs confondus | |
|--|----------------|---------------|------------|---------------|------------|---------------|--------------------------|---------------|
| | J | | J + P | | J + P + K | | Nombre | % |
| | Nombre | % | Nombre | % | Nombre | % | Nombre | % |
| 1 | 291 | 41,16 | 333 | 35,80 | 86 | 25,29 | 710 | 35,99 |
| 2 | 127 | 17,96 | 199 | 11,39 | 56 | 16,66 | 382 | 19,36 |
| 3 | 14 | 1,98 | 12 | 1,29 | 2 | 0,59 | 28 | 1,42 |
| 4 | 5 | 0,71 | 1 | 0,10 | 0 | 0,00 | 6 | 0,30 |
| 5 | 39 | 5,52 | 84 | 9,03 | 12 | 3,57 | 135 | 6,84 |
| 6 | 13 | 1,84 | 28 | 3,01 | 11 | 3,27 | 52 | 2,64 |
| 7 | 218 | 30,83 | 273 | 29,35 | 169 | 50,30 | 660 | 33,45 |
| Total des embryons mis en culture | 707 | 100,00 | 930 | 100,00 | 336 | 100,00 | 1973 | 100,00 |

Catégories de développement embryonnaire :

1. Embryons arrêtés dans le développement ou inviables,
2. Embryons donnant une racine,
3. Embryons se transformant en cal,

4. Cal produisant une racine,
5. Plantules albinos,
6. Embryons infectés,

7. Plantules vertes viables en boîte de Pétri.

2.2.3.2. Effet du pollinisateur aux différentes étapes de la production de plantes haploïdes et d'hybrides VB durant la culture en boîte de Pétri, en tube et en "fertil pot".

- Au moment de la nouaison

Les données sont présentées dans le tableau 1.14, et le test G (tableau 1.15) indique que les nombres de caryopses formés sont significativement différents, le pollen J étant le meilleur. Mais ce classement est à minimiser, car il reflète aussi l'effet de la période de pollinisation, le

mélange J + P + K au taux de nouaison le plus bas ayant été utilisé à la fin de la période de floraison.

Tableau 1.14: Effet des combinaisons polliniques sur le nombre d'embryons inviables par rapport aux embryons mis en culture

| pollinisateurs | nombre d'embryons inviables (catégorie 1) | nombre d'embryons des catégories 2 à 7 | nombre d'embryons mis en culture (total) |
|----------------|---|--|--|
| J | 291 | 416 | 707 |
| J+P | 333 | 597 | 930 |
| J+P+K | 86 | 250 | 336 |
| total | 710 | 1263 | 1973 |

Tableau 1.15 : Test d'indépendance de l'effet des combinaisons polliniques sur le nombre d'embryons inviables par rapport au nombre d'embryons mis en culture

| pollinisateurs | G | ddl | $\chi^2_{0.95}$ | $\chi^2_{0.99}$ | classement |
|----------------|----------|-----|-----------------|-----------------|-----------------|
| J, J+P, J+P+K | 10,71*** | 2 | 5,99 | 9,21 | J : 41,15 % a |
| J, J+P | 2,11 ns | 1 | 3,84 | | JP : 35,80 % a |
| J+P, J+P+K | 5,19* | 1 | 3,84 | | JPK : 25,59 % b |

- Durant la culture en boîte de Pétri.

Les données sont présentées dans le tableau 1.13. On constate que les pourcentages affichés dans les catégories 2 à 6 varient faiblement en fonction des trois compositions de pollen, plus fortement pour le pourcentage d'embryons inviables (catégorie 1) et de plantules vertes (catégorie 7) ; en particulier le mélange pollen J + P + K semble avoir un effet bénéfique puisque dans le croisement avec ce mélange, nous mesurons le pourcentage le plus faible d'embryons inviables et le pourcentage le plus élevé de plantules vertes. Le test G le confirme (tableaux 1.16 et 1.17).

Tableau 1.16 : Effets des combinaisons polliniques sur le nombre de plantules vertes obtenues par rapport au nombre d'embryons mis en culture

| Pollinisateurs | Nombre de plantules vertes (catégorie 7) | Nombre de plantules (Catégories de 1 à 6) | Nombre d'embryons mis en culture (total) |
|----------------|--|---|--|
| J | 218 | 489 | 707 |
| J+P | 273 | 657 | 930 |
| J+P+K | 169 | 167 | 336 |
| total | 660 | 1313 | 1973 |

Tableau 1.17 : Test d'indépendance de l'effet des combinaisons polliniques sur le nombre de plantules vertes par rapport au nombre d'embryons mis en culture

| pollinisateurs | G | ddl | $\chi^2_{0.95}$ | $\chi^2_{0.999}$ | classement |
|----------------|----------|-----|-----------------|------------------|-------------------|
| J, J+P, J+P+K | 21,60*** | 2 | 5,99 | 13,8 | J+P+K : 50,29 % a |
| J, J+P | 0,18 ns | 1 | 3,84 | | J : 30,83 % b |
| J+P, J+P+K | 15,82*** | 1 | 3,84 | 10,8 | J+P : 29,35 % b |

Mais quand on considère le nombre de plantules vertes par rapport au nombre de fleurs pollinisées (tableaux 1.18 et 1.19), la composition du pollen se révèle sans effet. Ce résultat est à rapprocher du commentaire que nous avons développé dans les caractéristiques générales, à savoir que n'ayant pas fait un tri entre embryons différenciés et indifférenciés, lors de leur mise en culture, le nombre de plantules viables est équivalent ou proche du

nombre d'embryons différenciés. Il en découle que le nombre d'embryons différenciés ne dépend pas du pollinisateur pour le génotype vulgare Motan x CM 67.

Tableau 1.18 : Etat du développement des embryons en boîte de Pétri

| pollinisateurs | Nombre de plantes vertes viables * | Nombre d'embryons inviabies | nombre de fleurs pollinisées (totaux) | % / nombre de fleurs pollinisées |
|----------------|------------------------------------|-----------------------------|---------------------------------------|----------------------------------|
| J | 218 | 1629 | 1847 | 11,80 |
| J+P | 273 | 2602 | 2875 | 9,49 |
| J+P+K | 169 | 1421 | 1590 | 10,63 |
| totaux | 660 | 5652 | 6312 | 10,46 |

* = catégorie 7, tableau 1.13

Tableau 1.19 : Test d'indépendance entre pollinisateurs

| Pollinisateurs | G | ddl | $\chi^2_{0,05}$ |
|----------------|----------|-----|-----------------|
| J, J+P, J+P+K | 3,207 ns | 2 | 5,99 |

- Durant la culture en tube

Les données sont présentées dans le tableau 1.20, catégories 1 à 3. Les pertes de plantules vertes (catégorie 2) sont très proches dans les croisements aux trois types de pollen. Il en découle que le type de pollen n'intervient pas sur le nombre de plantes à trois feuilles par rapport au nombre de fleurs pollinisées (tableaux 1.21 et 1.22).

Tableau 1.20 : Etat du développement des plantules en plantes vertes haploïdes ou hybrides (en "fertil pots") et pourcentage par rapport au nombre de plantules vertes en boîte de Pétri et au nombre de fleurs pollinisées

| Catégories de plantes | pollinisateurs | | | | | | Pollinisateurs confondus | |
|-----------------------|---|--------|---|--------|---|-------|--------------------------|------------------------|
| | J | | J + P | | J + P + K | | nombre | % / fleurs pollinisées |
| nombre | % / plantules vertes en boîtes de Pétri | nombre | % / plantules vertes en boîtes de Pétri | nombre | % / plantules vertes en boîtes de Pétri | | | |
| 1 | 218 | - | 273 | - | 169 | - | 660 | 10,45 |
| 2 | 72 | 33,03 | 88 | 32,23 | 63 | 37,28 | 223 | - |
| 3 | 146 | 65,97 | 185 | 67,77 | 106 | 62,72 | 437 | 6,92 |
| 4 | 45 | 20,64 | 65 | 23,81 | 33 | 19,53 | 143 | - |
| 5 | 101 | 46,33 | 120 | 43,96 | 73 | 43,19 | 294 | 4,66 |

1 = Plantules vertes viables, en boîte de Pétri et mises en tube

2 = plantules chlorophyllienne n'ayant pas survécu au repiquage en tube

3 = Plantes arrivant au stade 3 feuilles en tube

4 = Pertes au repiquage en "fertil-pots"

5 = Plantes vertes à 4 ou 5 feuilles traitées à la colchicine

Tableau 1.21 : Etat du développement des plantules en tube

| Pollinisateurs | Plantes à 3 feuilles * | échec | nombre de fleurs pollinisées (totaux) | %/ nombre de fleurs pollinisées |
|----------------|------------------------|-------------|---------------------------------------|---------------------------------|
| J | 146 | 1701 | 1847 | 7,90 |
| J+P | 185 | 2690 | 2875 | 6,43 |
| J+P+K | 106 | 1484 | 1590 | 6,60 |
| Totaux | 437 | 5875 | 6312 | 6,92 |

* =catégorie 3, tableau 1.20

Tableau 1.22 : Test d'indépendance entre pollinisateurs

| Pollinisateurs | G | ddl | $\chi^2_{0.05}$ |
|----------------|----------|-----|-----------------|
| J, J+P, J+P+K | 3,901 ns | 2 | 5,99 |

- Durant la croissance en "fertils pots"

Les données sont présentées dans le tableau 1.20, catégories 4 et 5. Les pertes, plus faibles qu'à l'étape de croissance précédente, sont de même valeur dans les trois pollinisateurs par rapport au nombre de fleurs pollinisées (tableau 1.23).

Tableau 1.23 : Effet des combinaisons polliniques sur le nombre de plantes vertes obtenues par rapport au nombre total de fleurs pollinisées (essai 1989)

| pollinisateurs | Nombre de plantes vertes (Catégorie 5) | échec | nombre de fleurs pollinisées | G | % |
|----------------|---|-------|---------------------------------|----------|------|
| J | 101 | 1746 | 1847 | 1,814 ns | 5,47 |
| J+P | 120 | 2755 | 2875 | | 4,17 |
| J+P+K | 73 | 1517 | 1590 | | 4,80 |
| total | 294 | 6018 | 6312 | | |

Enfin, on ne peut attribuer à un pollinisateur un meilleur résultat. Mais comme nous n'avons pu comparer le pollen des trois clones, nous pouvons nous demander au vu des résultats disponibles si le pollen du clone Jensen n'est pas le meilleur ; car dans les trois comparaisons (tableaux 1.18, 1.21 et 1.23), le pollen Jensen présente le pourcentage le plus élevé, tout en n'étant pas significatif. Nous allons trouver une indication allant dans le même sens en considérant nos données arrangées suivant la période de pollinisation.

2.2.3.3. – Effet de la période de pollinisation

Nous distinguons trois périodes de pollinisation, 2^{ème} et 3^{ème} décade d'avril et 1^{ère} décade de mai. Nous avons changé de pollinisateurs à chaque période : durant la 2^{ème} décade d'avril, nous avons utilisé le pollen du clone Jensen, durant la troisième décade, ce pollen et le mélange de pollen des clones Jensen et Pickering (J + P), et durant la première décade de mai le mélange de pollen des trois clones. Nous considérons les taux de nouaison en fonction des périodes de pollinisation (tableau 1.24). Le test G, appliqué au nombre de caryopses formés et non formés (tableau 1.25), montre que la deuxième décade d'avril, qui est la première décade de pollinisation, est la meilleure des trois décades. Mais comme le pollinisateur varie sur les trois décades, nous avons aussi dans ce classement l'effet du pollen et le pollen Jensen apparaît comme le meilleur. Il nous semble donc plus juste de dire que la période la plus favorable à la pollinisation va du 10 au 30 avril, début mai constitue la fin du temps de floraison. Il y a un léger décalage par rapport à l'essai 85/86, l'essai 88/89 paraissant plus précoce (voir 2.1.3.3, p. 28).

Tableau 1.24 : Effet de la période de pollinisation sur le taux de nouaison

| Périodes | caryopses | sans caryopses | total | % |
|-------------------|-----------|----------------|-------|-------|
| 2ème décade avril | 398 | 336 | 734 | 54,22 |
| 3ème décade avril | 1977 | 2188 | 4165 | 47,46 |
| 1ère décade mai | 352 | 1061 | 1413 | 24,91 |
| total | 2727 | 3585 | 6312 | |

Tableau 1.25 : Test d'indépendance

| périodes comparées | G | ddl | $\chi^2_{0,999}$ | classement |
|-------------------------|-------------|-----|------------------|----------------|
| 3 décades | 271,3733*** | 2 | 13,8 | 2ème d. A. "a" |
| 2ème d. A. - 3ème d. A. | 11,4040*** | 1 | 10,8 | 3ème d. A. "b" |
| 3ème d. A. - 1ère d. M. | 230,6866*** | 1 | 10,8 | 1ère d. M. "c" |

2.3. – Conclusion

Le croisement *vulgare* x clone *bulbosum* diploïde de l'essai 1988/1989 a donné préférentiellement des plantes haploïdes (98,64 %). Nous avons relevé (paragraphe 4.5.1, p. 13) qu'en pollinisation au champ, même en été sous les latitudes européennes, on obtient un certain nombre d'hybrides, supérieur à 1 %. Ce ne fut donc pas le cas dans notre dispositif, probablement à cause des températures de climat méditerranéen, plus élevés même en avril et mai qu'en juillet en France.

L'efficacité à l'haploïdie du croisement de 4,59 se situe dans les valeurs moyennes. Malgré les données incomplètes sur la production de plantes haploïdes en fonction des pollens isolés ou en mélange des trois clones, il semblerait que le pollen du clone Jensen ait un léger avantage avec le génotype Motan x CM 67, acquis au moment de la nouaison. Mais durant le développement des embryons en plante verte, il n'y a plus de différence entre le nombre de plantes en croissance, en référence au pollinisateur. Ce résultat nous paraît logique sur le plan biologique, puisque les plantes sont de l'espèce *vulgare* et n'ont plus aucune information génétique du pollinisateur *bulbosum*, suite à l'élimination des chromosomes *bulbosum*.

III – LES NOMBRES CHROMOSOMIQUES DES PLANTES UTILISEES ET PRODUITES DANS LA METHODE *BULBOSUM*

Nous décrivons les techniques cytologiques suivies pour l'analyse des caryotypes, mais nous donnons les résultats en nombre de chromosomes.

1 – LES TECHNIQUES CYTOLOGIQUES

Les nombres chromosomiques sont déterminés soit sur les figures de mitose des pointes de racines, soit sur les figures de méiose des cellules-mères de pollen.

Nous présentons successivement les techniques correspondantes qui sont celles développées par Madame Cauderon au laboratoire de Cytogénétique de l'INRA de Versailles France.

1.1. – Techniques d'analyse des mitoses racinaires (Cauderon et Gay, 1984)

Les pointes de racines prélevées, en fin d'après midi, sont mises dans une solution saturée d' α - monobromonaphtalène (eau ordinaire) pendant 5 heures, à température ambiante. La fixation a lieu dans l'acide acétique à 90 %, pendant 30 mn, à température ambiante. Le stockage des racines se fait dans de l'éthanol à 70°, après avoir effectué deux rinçages dans l'éthanol à 95°, pendant 5 mn chacun. Ces racines peuvent être conservées pendant au moins un an à 5° C.

La réhydratation à l'eau ordinaire se fait par trois rinçages successifs de 5 mn chacun. L'hydrolyse est réalisée à l'aide de HCl normal à 60°C, pendant 10 à 12 mn. La coloration se fait avec le réactif de Schiff, pendant une heure, à température ambiante. Les pointes de racines sont ensuite rincées à l'eau distillée pendant environ 10 mn. L'étalement se fait dans une goutte de carmin acétique de Belling à 1 %, entre lame et lamelle, après isolement de la zone méristématique.

Les lames sont lutées avec la dissolution de caoutchouc lorsqu'il s'agit d'un montage temporaire. Ces lames peuvent être conservées pendant quelques jours dans le bac à glace du réfrigérateur.

Il est connu que le caryotype haploïde de l'orge est constitué de 5 chromosomes à centromères métacentrique et de 2 chromosomes submétacentrique avec un bras portant un satellite.

1.2. – Techniques d'analyse des méioses (Taleb, 1983, et Cauderon et Gay, 1984)

Comme les épis aptes au prélèvement sont encore engagés, par tâtonnement on fixe d'abord la taille adéquate de l'épi et sa position dans la gaine.

Une fois l'épi coupé, au laboratoire, et d'après la taille, la couleur et la position sur l'épi, on essaie d'orienter le choix des fleurs à examiner. On écrase une étamine dans une goutte de carmin acétique de Belling en faisant sortir les cellules mères de pollen à l'aide d'une aiguille et l'on observe au microscope, à faible grossissement. Les cellules se colorent rapidement au contact du colorant : si elles ne sont pas au stade recherché, on doit parcourir l'épi, en tenant compte des différences de maturité entre ses diverses régions ; si elles sont au stade recherché, on fixe les deux anthères dans un mélange d'alcool acétique (alcool absolu, trois parts ; acide acétique glacial, une part) et une goutte de perchlorure de fer anhydre sublimé en solution saturée dans l'eau distillée pour 5 cc de fixateur.

Après un séjour de 48 heures dans le fixateur à la température ambiante, les étamines sont lavées à l'alcool éthylique : trois lavages, de 5 à 10 mn, en commençant par l'alcool absolu, ensuite l'alcool à 95° et finalement l'alcool à 70° qui servira comme liquide conservateur. Les tubes peuvent être stockés au réfrigérateur pendant des périodes allant jusqu'à 2 ans. Les meilleures préparations s'obtiennent à partir de périodes de stockage se situant entre deux et six mois.

Au sortir du stockage dans l'alcool, on coupe l'étamine sur une lame parfaitement propre et à l'aide d'aiguilles, sous une loupe binoculaire, on fait sortir doucement les cellules mères de pollen dans une goutte de carmin acétique ferreux de Belling. On dissocie les amas de cellules, et on élimine les débris d'anthère. On couvre avec une lamelle extra-mince préalablement albuminée. Cette dernière précaution facilite le montage en préparation permanente puisqu'elle permet une meilleure rétention des cellules.

On chauffe la préparation sur une lampe à alcool, sans dépasser les limites de 60 - 70°, et en évitant l'ébullition du carmin. Les cellules se dilatent, permettant la pénétration du colorant et l'étalement des plaques métaphasiques. La coloration des chromosomes s'intensifie et le contraste avec le cytoplasme augmente. Le déroulement de cette opération est suivi sous la loupe. On peut effectuer une régression à l'eau acétique (acide acétique 45 %) pour améliorer le contraste et l'étalement de la préparation.

1.3. - Observations au microscope

Pour l'observation des figures cytologiques, nous avons procédé de la manière suivante. Sur les pointes de racine, dès que nous avons une métaphase comptable nous arrêtons notre prospection. Sur les cellules-mères de pollen, nous avons observé suivant les plantes de 19 à 130 cellules à différents stades de méiose et nous recherchions parmi elles les figures de diacynèse et métaphase I.

Planche II : Les caryotypes des plantes du croisement interspécifique *H. vulgare* x *H. bulbosum*, observés sur les mitoses des méristèmes racinaires ou les méioses des cellules-mères de pollen.

Techniques : Etalement et coloration au réactif de Schiff pour les cellules en mitose et au carmin acétique ferreux pour les cellules-mères de pollen.

Microscope : de marque Weils, objectif à immersion.

Figure 1 : Mitose de cellule méristématique de racine de la plante haploïde *vulgare* (V). Entre des cellules à noyau quiescent, une cellule en métaphase en vue polaire, on dénombre 6 chromosomes, le 7^{ème} n'est pas apparent ; $n = 7$.

Figures 2 à 6 : Méiose de cellule-mères de pollen de la plante F₁ CM 67 x Motan, figure 2, et de différentes plantes HD, figures 3 à 6.

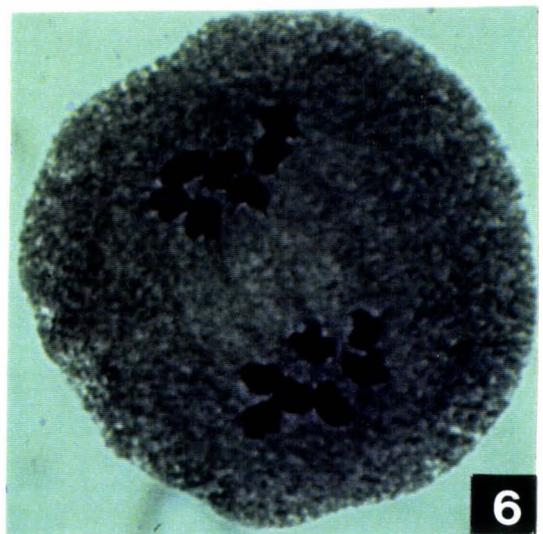
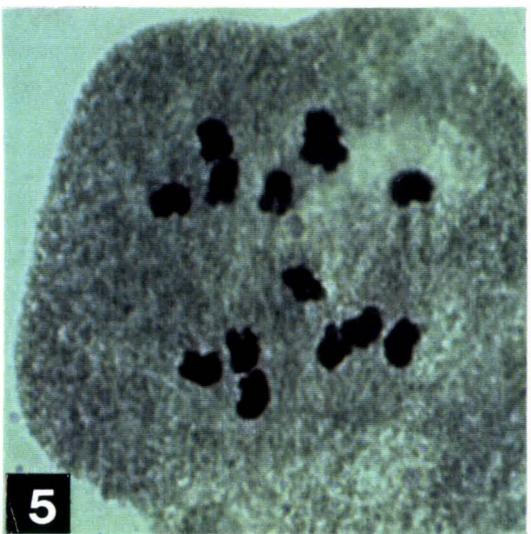
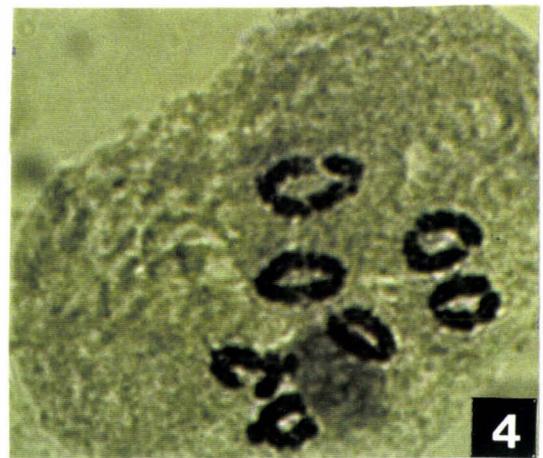
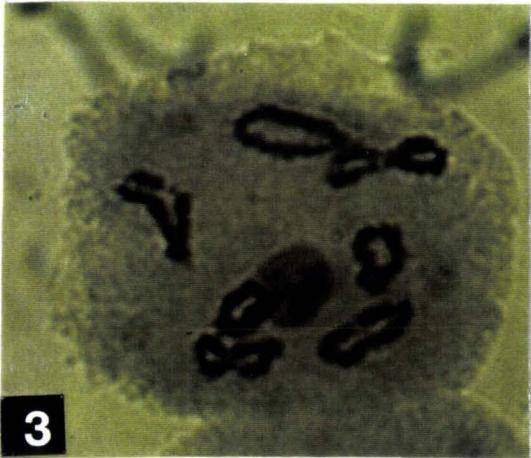
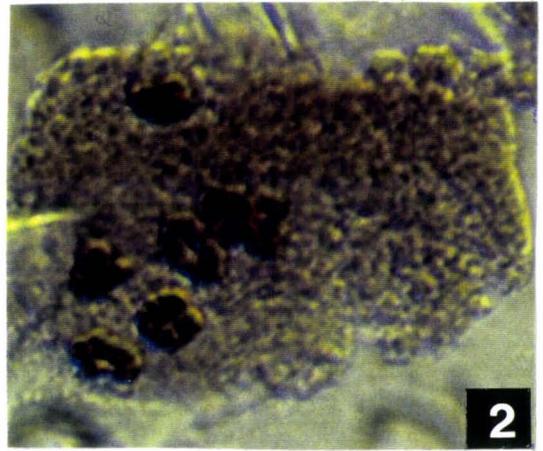
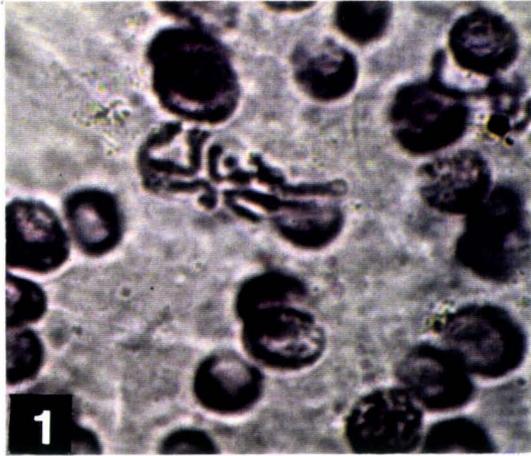
Figure 2 : Métaphase I, 7 bivalents, $2n = 14$, caractéristique de l'espèce *H. vulgare*.

Figure 3 : Diacinèse. On reconnaît 3 bivalents en 8, 3 bivalents en anneau, et un bivalent plaqué sur le nucléole (bivalent aux deux chromosomes homologues à satellite) ; $2n = 14$, haploïde doublé.

Figure 4 : Métaphase I en vue polaire. On reconnaît 4 bivalents en anneau, et 3 bivalents dont un chiasma terminal est effacé ; $2n = 14$, haploïde doublé.

Figure 5 : Anaphase I. La séparation des chromosomes homologues des bivalents est rigoureuse et la migration vers les deux pôles cellulaires des deux lots haploïdes de 7 chromosomes est commencée.

Figure 6 : Fin d'anaphase I. La migration des deux lots haploïdes de chromosomes est terminée.



2 – LES NOMBRES CHROMOSOMIQUES DES PARENTS DU CROISEMENT INTERSPECIFIQUE, *H. VULGARE* F₁ MOTAN X CM 67 ET *H. BULBOSUM*, ET DES PLANTES PRODUITES PAR CE CROISEMENT, LES PLANTES HAPLOÏDES (V) ET LES PLANTES HAPLOÏDES DOUBLÉES (VV).

Les dénombrements chromosomiques ont été réalisées sur les plantes de l'essai 1988/1989. Nous rappelons les résultats de cette production : 290 plantes haploïdes, 4 plantes hybrides (VB) et, après l'action de la colchicine sur les plantes haploïdes, 78 plantes haploïdes doublées (tableau 1.4, p. 24). L'analyse cytologique n'a pas porté sur les plantes hybrides VB qui d'ailleurs sont sans intérêt pour notre recherche.

2.1. – *Le nombre chromosomique des parents du croisement interspécifique*

Le nombre chromosomique a été déterminé sur les figures de méiose. Le parent *vulgare* qui est la F₁ CM 67 x Motan et le parent *bulbosum* présentent chacun les 7 bivalents. Sur la planche II, figure 2, nous donnons la figure d'une métaphase I du parent *vulgare*.

2.2. – *Le nombre chromosomique des plantes haploïdes*

Le nombre chromosomique est donné sur les figures de mitose des pointes de racines. Celles-ci avaient été prélevées juste avant le trempage des plantes dans la solution de colchicine. Toutes les plantes haploïdes ont été contrôlées et ont présenté 7 chromosomes. La figure 1 de la planche II donne une métaphase.

2.3. – *Le nombre chromosomique des plantes haploïdes doublées.*

Le nombre chromosomique a été contrôlé à la fois en mitose et en méiose. Les racines ont été prélevées sur les plantes ayant bien repris leur croissance après le traitement à la colchicine. Toutes les lignées ont été analysées et elles ont présenté 14 chromosomes en métaphase. Ce résultat démontre que les racines adventives sont issues de régions sous-jacentes au méristème caulinaire devenu diploïde. Treize lignées ont été analysées en méiose. Les treize figures de métaphase I ont présenté 7 bivalents caractéristiques. Les figures 3 à 6 donnent des images de ces figures de méiose. Il est probable que les deux bivalents en 8 (figures 3 et 4) sont constitués des 4 chromosomes à satellite. En diacinèse (figure 3), trois bivalents sont en 8 et 4 en anneaux ; à la suite de la contraction des chromosomes en métaphase I, tous les bivalents sont en anneau et deux ne possèdent plus qu'un chiasma terminal (figure 4). Les deux figures d'une anaphase (figure 5 et 6) montrent bien que la disjonction des deux lots haploïdes de chromosomes est bien équilibrée (à chaque pôle, 7 chromosomes).

2.4. - *Conclusion*

Nos analyses caryologiques vérifient bien l'état haploïde et haploïde doublé de notre matériel. Dans les méioses d'haploïdes doublés nous n'avons pas trouvé de figures de multivalents ou d'univalent qui auraient pu indiqué une élimination incomplète des chromosomes d'un des deux génomes durant le développement de l'embryon hybride. Comme les auteurs l'ont bien montré (paragraphe 4.2, p.11) les chromosomes *bulbosum* sont progressivement et sélectivement éliminés. La morphologie des plantes appuie les observations caryologiques : nous obtenons bien des plantes haploïdes de phénotype *vulgare* par la culture d'embryons, hybrides à la suite de la fécondation, et d'haploïdes doublés de phénotype *vulgare* par l'action de la colchicine.

IV - CONCLUSION

La production des plantes haploïdes doublées par la méthode *bulbosum* nous a permis de nous familiariser avec les techniques de culture d'embryons et cytologiques. Elle nous a aussi permis de voir des comportements différents des génomes *vulgare* (V) et *bulbosum* (B) dans la plante hybride. Lorsque ces génomes sont en nombre égal (1/1), le génome *bulbosum* est éliminé ; si *bulbosum* est doublé BB/V (2/1), le génome *bulbosum* se maintient, et l'hybride est bien stable.

Finalement le meilleur avantage que nous tirons de la pratique de la technique *bulbosum* est que nous disposons maintenant de plantes haploïdes doublées. Ce sont des plantes fertiles et homozygotes pour tous les gènes issues des gamètes de la plante F₁ CM 67 x Motan. Ce sont les mêmes gamètes qui ont donné la F₂. La comparaison de la population de génotypes F₂ et de lignées haploïdes doublées vont donc nous donner accès à des propriétés génétiques nouvelles sur l'hétérosis objet de la partie suivante.

2ème PARTIE

**L'HETEROSIS
BASES GENETIQUES ET POSSIBILITES D'UTILISATION**

2ème PARTIE

**L'HÉTÉROISIS
BASES GÉNÉTIQUES ET POSSIBILITÉS D'UTILISATION**
I – BIBLIOGRAPHIE**1. – DEFINITIONS, MÉCANISMES ET UTILISATION**

L'hétérosis est une stimulation due à l'état hybride (Shull, 1908 cité par Demarly, 1977). Il peut se mesurer par rapport :

- au parent moyen,
- au meilleur parent,
- à la meilleure variété lignée.

Dans ce dernier cas, on parle d'hétérosis économique ou standard.

Deux grands mécanismes génétiques peuvent expliquer le phénomène de l'hétérosis, la dominance et la superdominance. Dans le cas de la dominance, pour un caractère quantitatif contrôlé par plusieurs gènes, l'avantage systématique du croisement entre plantes non apparentées par rapport au croisement entre plantes apparentées est dû à la réunion dans un même génotype d'un grand nombre de gènes dominants favorables. Dans cette situation, il est alors possible de concevoir un génotype homozygote aussi bon que la F_1 : en théorie, l'hétérosis est dit fixable. Cependant, avec un grand nombre de gènes et l'effet du linkage (pseudosuperdominance), la fixation sera impossible à l'échelle du sélectionneur. Dans le cas de la superdominance, la supériorité de l'hybride par rapport aux parents vient de la supériorité de l'état hétérozygote à un certain nombre de loci : $Aa > AA, aa$. Dans ce cas, l'hétérosis est non fixable.

1.1. - Origine physiologique de l'hétérosis

Pour certains auteurs, l'hétérosis pourrait résulter d'une complémentarité mitochondriale (Sarkissian et Srivastava, 1969 cités par Sarkissian, 1972). Selon Mc Daniel, (1973), Sage et Hobson, (1973), l'hétérosis résulterait d'une activité mitochondriale plus importante chez les hybrides. Il serait possible de la mesurer au stade jeune et donc de sélectionner à ce stade les meilleurs hybrides. Cependant, Sen (1981) dans son étude sur l'hétérosis mitochondrial de la tige au stade plantule et du taux d'oxygène des hybrides et de leurs parents de trois espèces (*Triticum aestivum*, *Hordeum vulgare* et *Zea mays*) ainsi que des mélanges des mitochondries parentales, ne trouve aucune évidence pour l'hétérosis mitochondrial ou la complémentarité mitochondriale *in vitro*, ni de corrélation entre les différents paramètres mitochondriaux et l'hétérosis pour les caractères étudiés.

Une nouvelle hypothèse biochimique concernant la vigueur hybride a été formulée récemment par Milborrow (1998). Selon cet auteur, la présence de deux allèles différents chez les organismes hétérozygotes et codant pour le contrôle des mécanismes biochimiques, entraîne une réduction de la répression du contrôle du métabolisme, ce qui pourrait permettre une croissance plus grande chez ces derniers.

Tableau 2.1 : Hétérosis du rendement en grain chez le blé tendre

| hétérosis en % par rapport | | | nombre d'hybrides F ₁ étudiés | nombre F ₁ >au meilleur parent | Caractères et cause de l'hétérosis | auteurs |
|----------------------------|--------------------------|------------------|--|---|--|---|
| parent moyen | meilleur parent | meilleure lignée | | | | |
| | 35,7 | | 28 | 16 | nbre de grains par épi et/ou poids de 1000 grains diversité génétique des parents | Bhadouria <i>et al.</i> , 1976 |
| | | | | | poids du grain et nbre de grains par épi | Singh et Behl, 1991 |
| | | 134 à 174 | | | | Vitkare et Atale, 1991 |
| | >10 | | 15 | 4 | | Saleem et Hussain, 1988 |
| | | | 36 | 1 | | Khan et Bajwa, 1989 |
| | | 5,07 | | | | Gupta <i>et al.</i> , 1989 |
| | 61,70 | | 45 | | | Singh et Mishra, 1990 |
| 5 à 58 (moy.=20) | -17 à 41 (moy.= 8) | | 28 | | | Crégan et Bush, 1978 |
| 31,5 | 26,8 | 18,2 | | | | Uddin <i>et al.</i> , 1992 |
| | -10,2 à 23,9 (moy.= 3,1) | 7,3 | 34 | 21 | | Oury <i>et al.</i> , 1990a |
| | -5,4 à 15,9 (moy.=4) | | 35 | | | Oury <i>et al.</i> , 1990b |
| | 4,3 | | 10 | | | Brears <i>et al.</i> , 1988 cités par Oury <i>et al.</i> ; 1990a |
| | 7,3 3,6 | | 17 430 | | | Borghini <i>et al.</i> , 1988 Morgan <i>et al.</i> , 1989 |
| 100à 127 | 99 | 119 | | | | Boland et Walcott, 1985 |

1.2. - Utilisation de l'hétérosis

Le choix entre lignées et hybrides, dépend des possibilités de fixation à court terme de l'hétérosis. La connaissance des paramètres (moyenne et variance) de la distribution de toutes les variétés d'un type donné qui peuvent dériver d'une population est alors nécessaire pour savoir s'il est préférable de développer des lignées ou des hybrides (Gallais, 1988). Le choix, à long terme, entre hybrides et lignées, dépend de la base génétique de l'hétérosis (dominance ou superdominance). Pour développer des hybrides, trois conditions doivent être remplies :

- l'hétérosis doit être suffisant,
- le contrôle de l'hybridation doit être possible à grande échelle,
- la production des semences doit être facile.

Pour le contrôle de l'hybridation, il faut d'abord disposer d'un système de stérilité mâle nucléocytoplasmique efficace et sûr (Foster et Fothergill, 1981) ou bien d'un gamétocide efficace et dépourvu de phytotoxicité. Selon Jestin (1987), il y a des difficultés chez l'orge avec les deux solutions. L'utilisation de la stérilité mâle génique par un système original comportant un chromosome supplémentaire transloqué porteur de l'allèle de fertilité, non transmis par le pollen (système BTT = trisomique tertiaire balancé de Ramage), ainsi que le système de stérilité mâle nucléocytoplasmique très instable, obtenu par Scooler (1967, dans Jestin, 1987) par croisement interspécifique complexe, se sont soldés par des échecs. Quant à l'utilisation de gamétocides chez l'orge, Jestin (1987) souligne qu'il y a un effet assez marqué de phytotoxicité pouvant se répercuter sur la semence F_1 . Ensuite, pour que le marché des hybrides F_1 soit assuré, il faut que la pollinisation soit suffisante pour une production importante de semences hybrides F_1 (Scholz et Kunzel, 1986), et que la plus-value des rendements en grain de la variété hybride soit économiquement significative (Foster et Fothergill, 1981).

2 – IMPORTANCE ET MANIFESTATION DE L'HÉTÉROSIS CHEZ LES CÉRÉALES

2.1.- Hétérosis au niveau du rendement en grain chez différentes céréales

Chez l'orge, l'hétérosis pour le rendement en grain par rapport à la valeur du parent le plus élevé est variable selon les conditions de milieu. Cet hétérosis est présent même à des densités de semis élevées (Foster et Fothergill, 1981). Selon Jestin (1987), des effets d'hétérosis par rapport au meilleur parent atteignent 20 à 40 % en condition de sécheresse et de culture extensive ; en protocoles plantes isolées ou petits poquets, ils se situent même entre 140 et 150 % par rapport aux témoins. Des résultats approchants avaient déjà été apportés par Fedak et Fejer (1975). Ceux-ci ont montré que le semis en lignes à forte densité ne donne aucun avantage significatif des hybrides pour le rendement ; alors qu'à très faible densité, un avantage apparaît. Pour Sethi et al. (1987), l'hétérosis le plus élevé par rapport au meilleur parent a été de 159,3 % pour le rendement.

Chez le blé dur, peu de travaux sur l'hétérosis ont été réalisés. Dhonukshe et Rao (1979) ont rapporté un hétérosis pour le rendement en grain par rapport au parent moyen de - 3,5 à 136,7 % et, par rapport au meilleur parent, de -18,0 à 80,0 %. Pour Ahmad et al. (1979), l'hétérosis économique pour le rendement en grain a été de 29,3 %.

Chez le blé tendre, la majorité des auteurs trouvent un hétérosis pour le rendement en grain, à l'exception de Khalifa et Al-Saheal (1984). Cependant, comme pour l'orge, la valeur de l'hétérosis apparaît très variable selon les expériences, c'est à dire le matériel et les conditions de milieu. L'hétérosis dépend de la densité de semis, de la fertilisation et des combinaisons variétales (Oury et al., 1990a). Il est à noter que les valeurs d'hétérosis les plus élevées ont été obtenues dans des conditions de semis clair (plantes isolées ou en poquets) par Jestin (1987) et Fedak et Fejer (1975), de fertilisation élevée par Jatrasra et al. (1980). Ces

Tableau 2.2 : Hétérosis du nombre d'épis par plante chez l'orge, le blé dur et le blé tendre

| espèces | Hétérosis en % par rapport | | meilleure lignée | nombre | | observations | auteurs |
|------------|----------------------------|-----------------|------------------|-------------------------|----------------------------------|--|--|
| | parent moyen | meilleur parent | | F ₁ étudiées | F ₁ > meilleur parent | | |
| orge | max. 10 | | | 42 | | semis espacé | Fejer and Fedak, 1978 |
| blé dur | -16,9 à 34,6 | -18,9 à 24,7 | | 36 | | | Dhonukshe and Rao, 1979 |
| | | | 171,9 | 36 | | contribue à l'hétérosis du rendement en grain | Ahmad <i>et al.</i> , 1979 |
| | moy.=19 | | | | | | Gautam et Jain, 1985 |
| blé tendre | max. 15,1 | 9,3 | | | | | Bhadouria <i>et al.</i> , 1976 |
| | -16,6 à 355,8 | -21,7 à 344,4 | | | | | Deshmukh et Deshmukh, 1989 |
| | 0 | | | 36 | | | Khan et Bajwa, 1989 |
| | | | 26,2 à 93,5 | | | | Jatasra <i>et al.</i> , 1980 |
| | 23,3 | 20,4 | | | | faible contribution dans l'hétérosis du rendement en grain | Uddin <i>et al.</i> , 1992 |
| | -24,2 à 16 | | | 34 35 | | nombre d'épis proche du parent moyen | Oury <i>et al.</i> , 1990a et Oury <i>et al.</i> , 1990b |

Tableau 2.3 : Hétérosis du nombre de grains par épi chez l'orge, le blé dur et le blé tendre

| espèces | hétérosis en % par rapport | | | nombre F ₁ étudiées | nombre F ₁ > meilleur parent | observations | auteurs |
|------------|----------------------------|-----------------|------------------|--------------------------------|---|--|----------------------------|
| | parent moyen | meilleur parent | meilleure lignée | | | | |
| orge | 21 | | | 28 | 3 | | Chaudhary et Singh, 1977 |
| blé dur | | | | 36 | | aucun hybride ne dépasse la variété témoin | Dhonuskhe et Rao, 1979 |
| | max. 28,83 | 1916 | | 15 | 8 | | Saleem et Hussain, 1988 |
| blé tendre | max. 14,5 | max. 14,7 | | | | | Uddin <i>et al.</i> , 1992 |
| | | | | 36 | 1 | | Khan et Bajwa, 1989 |
| | | -25,6 à 18,9 | | 34 | | | Oury <i>et al.</i> , 1990a |
| | moy.= -4,2 | | | 112 F ₂ | | | Cox et Murphy, 1990 |

valeurs d'hétérosis très importantes obtenues en semis clair sont difficilement extrapolables aux conditions des pratiques culturales habituelles (Oury et *al.*, 1990a). L'hétérosis par rapport au meilleur parent a été de 8 % pour Cregan et Busch (1978), de 109,2 % pour Sharma et *al.*, (1986) et de 3,1 et 4 % pour respectivement Oury et *al.* (1990a) et Oury et *al.* (1990b) . L'hétérosis économique a été de -46,8 % pour Jatasra et *al.* (1980) et de 174 % pour Vitcare et Atale (1991).

Selon Oury et *al.*, (1995), la supériorité des hybrides F₁ serait due à leur supériorité à une accumulation de l'azote post-floraison. Cette plus grande absorption d'azote entre la floraison et la maturité est associée à une augmentation de la durée de la phase de remplissage du grain.

D'autres auteurs ont rapporté un lien entre d'une part l'hétérosis du rendement en grain, d'autre part la biomasse totale par plante (Sharma et *al.*, 1986), la cinétique de l'accumulation de matière sèche et la variation de la surface verte (Perenzin et *al.*, 1987). Cependant, une grande majorité de variations de caractères du phénotype sont les résultantes de composantes multiples qui interagissent.

2.2.- Hétérosis au niveau des composantes du rendement en grains et de l'indice de récolte

L'hétérosis au niveau du rendement en grain est le résultat de l'hétérosis au niveau de ses composantes. Plusieurs auteurs (Bhadouria et *al.*, 1976, Singh et Behl, 1991, Perenzin et *al.*, 1987) ont trouvé des relations entre l'hétérosis d'une ou de deux composantes du rendement avec l'hétérosis du rendement en grain. Les principales composantes citées sont : nombre de grains par épi et/ou poids de 1000 grains (Bhadouria et *al.*, 1976, Singh et Behl, 1991 et Jatasra et *al.*, 1980) et nombre de talles effectives (Jatasra et *al.*, 1980 et Sharma et *al.*, 1986). Par conséquent, l'amélioration du rendement en grain pourrait être réalisée par une sélection sur ses composantes (Edwards et *al.*, 1976).

2.2.1. - Nombre d'épis par plante (tableau 2.2)

Chez l'orge, selon Fejer et Fedak (1978), l'hétérosis de ce caractère a atteint 10 % par rapport au parent moyen dans un semis à très faible densité. Des hybrides supérieurs au meilleur parent ont été rapportés par Chaudhary et Singh, (1977). Chez le blé dur, Dhonukshe et Rao (1979) ont obtenu un hétérosis par rapport au parent moyen variant de -16,9 % à 34,6 %, et un hétérosis par rapport au meilleur parent variant de -18,9 % à 24,7 %. Gautam et Jain (1985) ont obtenu un hétérosis moyen de 19 %. Ahmad et *al.*, (1979) ont obtenu un hétérosis par rapport à la meilleure lignée de 171,9 %. Pour ces auteurs, c'est l'hétérosis du nombre d'épis par plante qui explique l'hétérosis du rendement en grain. Chez le blé tendre, l'hétérosis moyen pour le nombre d'épis par plante par rapport au parent moyen a été de 23,3 % dans une expérience de Uddin et *al.*(1992). Le rôle de cette composante du rendement en grain est toutefois discuté ; pour les uns (Uddin et *al.*, 1992 ; Bitzer et *al.*, 1982 et Khan et Bajwa, 1989), elle est faible ou nulle, pour les autres (Oury et *al.*, 1990a et Oury et *al.*, 1990b), elle est nette.

2.2.2.- Nombre de grains par épi (tableau 2.3)

Chez l'orge, selon Fejer et Fedak (1978), l'hétérosis du nombre de grains par épi par rapport au parent moyen chez l'orge a atteint 21 % en semis clair. Chez le blé dur, l'étude réalisée par Dhonukshe et Rao (1979) montre qu'aucun hybride ne dépasse la variété témoin. Chez le blé tendre, Cox et Murphy (1990) ont observé un hétérosis moyen par rapport au parent moyen de -4,2 %. Les travaux de Oury et *al.* (1990a) montrent un hétérosis par rapport

Tableau 2.4 : Hétérosis du poids de 1000 grains chez l'orge, le blé dur et le blé tendre

| espèces | hétérosis en % par rapport | | | nombre | nombre | observations | auteurs |
|------------|----------------------------|------------------|------------------|-------------------------|---------------------------------|---|--------------------------|
| | parent moyen | parent supérieur | meilleure lignée | F ₁ étudiées | F ₁ >meilleur parent | | |
| orge | 23 | | | 42 | | | Fejer et Fedak, 1978 |
| blé dur | 64,37 | | 55,07 | | | contribue à l'hétérosis du rendement en grain | Dhonukshe et Rao, 1979 |
| | | | 18,90 | | | contribue à l'hétérosis du rendement en grain | Ahmad et al., 1979 |
| | moy. 10 | | | | | | Gautam et Jain, 1985 |
| blé tendre | 0,2 à 19,6 | | | | 1 | | Bhadouria et al., 1976 |
| | | | | | | pas d'hétérosis positif | Desmukh et Desmukh, 1989 |
| | 57 | | | 105 | | | Atale et Vitcare, 1990 |
| | 37,42 | 29,46 | | | 3 | | Saleem et Hussain, 1988 |
| | | | | | | pas d'hétérosis par rapport au parent supérieur | Khan et Bajwa, 1989 |
| | | | | 10 | | pas d'hétérosis | Perenzin et al., 1989 |
| | | 55,75 | | 28 | | | Bhowmik et al., 1990 |
| | 4,2 à 14,8 | 0,6 à 8,5 | | | | | Uddin et al., 1992 |
| | | -7,8 à 25,7 | | 34 | 26 | | Oury et al., 1990a |
| | moy. 6,6 | | | 112 F ₂ bulk | | hétérosis non significatif | Cox et Murphy, 1990 |

au parent moyen variant de 25,6 % à 18,9 %. Dans l'étude de Jatasra et *al.* (1980), il n'apparaît aucun hybride supérieur à la lignée commerciale dans les deux milieux étudiés (fertilisation élevée et faible). Selon Vitkare et Atale (1991) et Bitzer et *al.* (1982), il y a peu ou pas d'hétérosis. Par contre, pour Bhadouria et *al.* (1976) et Singh et Behl (1991), c'est l'hétérosis du nombre de grains par épi qui contribue à l'hétérosis du rendement en grain.

2.2.3.- Poids de 1000 grains et grosseur du grain (tableaux 2.4 et 2.5)

Chez l'orge, Fejer et Fedak (1978) ont rapporté un hétérosis par rapport au parent moyen chez l'orge de 23 %. En ce qui concerne la grosseur du grain, Fedak et Fejer (1975) n'ont pas trouvé d'hétérosis dans leurs études. Les travaux de Chaudhary et Singh (1977) font apparaître l'hétérosis pour le poids de 1000 grains comme très lié à l'hétérosis du rendement. Chez le blé dur, Dhonukshe et Rao (1979) et Ahmad et *al.* (1979) ont montré une contribution de l'hétérosis du poids de 1000 grains dans l'hétérosis du rendement en grain. Les valeurs d'hétérosis par rapport à la meilleure lignée ont été de 18,9 % pour Ahmad et *al.* (1979) et de 55,0 % pour Dhonukshe et Rao (1979).

Chez le blé tendre, l'hétérosis par rapport au parent moyen varie de 0,2 % à 19,6 % dans les expériences de Bhadouria et *al.* (1976), et de 4,2 à 14,8 % dans celles de Uddin et *al.* (1992). Il a été en moyenne de 6,6 % pour Cox et Murphy (1990). Oury et *al.* (1990a) ont montré un hétérosis par rapport au meilleur parent variant de -7,8 à 25,7 %. Deshmukh et Deshmukh (1989), Khan et Bajwa (1989) et Perenzin et *al.* (1989) n'ont pas trouvé d'hétérosis pour le poids de 1000 grains dans leurs études. Il est à noter que l'absence d'hétérosis positif, trouvée par Deshmukh et Deshmukh (1989), peut être expliquée par le fait que dans leur expérience le nombre d'épis par plante est très élevé, ce qui entraîne une compétition très importante entre grains pour le remplissage du grain. Pour Bhadouria et *al.* (1976) et Singh et Behl (1991), c'est l'hétérosis du poids du grain qui contribue à l'hétérosis du rendement en grain.

2.2.4.- Indice de récolte (tableau 2.5)

L'hétérosis au niveau de l'indice de récolte signifie que la proportion de grains serait plus grande chez les hybrides. Cela a été effectivement observé par Sethi et *al.* (1987) chez l'orge avec un hétérosis par rapport au meilleur parent de 26,54 % et par Srivastava et *al.* (1985) chez le blé dur, avec un hétérosis par rapport au parent moyen de 20 %.

2.3.- Caractères morphologiques et physiologiques (tableau 2.5)

2.3.1.- Longueur de l'épi

Chez le blé dur, Dhonukshe et Rao (1979) ont noté un hétérosis parent moyen allant de -4,0 à 17,6 %, et un hétérosis parent supérieur très faible, tandis que pour Ahmad et *al.* (1979) l'hétérosis par rapport à la meilleure lignée a été de 48,2 %. Ces auteurs concluent que l'hétérosis de ce caractère contribue à l'hétérosis du rendement en grain.

2.3.2.- Hauteur de la tige

Chez l'orge, Fejer et Fedak (1978) ont observé un hétérosis parent moyen de 15%. Chez le blé dur, Dhonukshe et Rao (1979) montrent que toutes les F₁ étudiées étaient supérieures au parent moyen, mais seuls 7 hybrides sur 36 avaient une hauteur supérieure au meilleur parent. Gautam et Jain (1985) ont rapporté un hétérosis moyen par rapport au parent moyen de 9 %.

Tableau 2.5 : Hétérosis de la grosseur du grain, de l'indice de récolte, de la longueur de l'épi, de la hauteur de la tige, de la précocité et du remplissage du grain

| caractères et espèces | hétérosis en % par rapport | | | nombre F ₁ étudiés | nombre F ₁ >parent supérieur | observations | auteurs |
|--|----------------------------|-------------------------|-------------------------------|-------------------------------|---|--|---|
| | parent moyen | parent supérieur | meilleure lignée | | | | |
| <u>grosseur du grain</u> orge | | | | | | pas d'hétérosis | Fedak et Fejer, 1975 |
| <u>I.R.</u> orge blé dur | | 26,5 | | | | | Sethi et al., 1987 |
| | 20 | | | | | | Srivastava et al., 1985 |
| <u>longueur de l'épi</u> blé dur | -4,1 à 17,6 | très faible | | | | | Dhonukshe et Rao, 1979 |
| | | | 48,3 | | | lié à l'hétérosis du rendement | Ahmad et al., 1979 |
| | blé tendre | 4,3 à 10,2 | | | 1 | | Bhadouria et al., 1976 |
| | -0,9 à 39,0 | -13,1 à 22,5 | | | | | Deshmukh et Deshmukh, 1989 |
| <u>hauteur</u> orge blé dur | 15 | | | | | | Fejer et Fedak, 1978 |
| | moy. 9 | | | | | | Gautam et Jain, 1985 |
| | | | | 36 | 7 | F ₁ >parent moyen | Dhonukshe et Rao, 1979 |
| | blé tendre | -22,5 à 18,9 | -34,5 à 10,6 | | | | Deshmukh et Deshmukh, 1989 |
| | | max. 8,74 | 8,53 | | 15 | | Saleem et Hussain, 1988 |
| | | max.25,0* max.25,3** | | | 28 | | hétérosis négatif pour 10 F ₁ (un des deux parent est triple nain) |
| | | -21,1 à 10 | | 34 | 13 | | Oury et al., 1990a |
| <u>précocité épiaison</u> blé tendre | -10,6 à 1,6 | -18,2 à 1,6 | | 11 | | hétérosis négatif pour 6 F ₁ | Deshmukh et Deshmukh, 1989 |
| | | | -11,9 à 4,1* -10,6 à 4,1** | 28 | | effet de la fertilité | Jatasra et al., 1980 |
| | | -3,9 à 0 | | 34 | | F ₁ presque toutes plus précoces que le parent moy. | Oury et al., 1990a |
| <u>remplissage du grain</u> blé tendre | max.-29,5 | | | 45 | | | Singh et Mishra, 1990 |

* = fertilisation élevée

** = fertilisation faible

2.3.3.- *Précocité*

Chez le blé tendre, l'hétérosis augmente en général la précocité. Presque toutes les 34 F₁ étudiées par Oury et *al.* (1990a) sont plus précoces que le parent moyen. Ainsi Deshmukh et Deshmukh (1989) ont observé un hétérosis de la précocité à l'épiaison variant de -10,60% à 1,6% et de -18,2% à 1,6% respectivement par rapport au parent moyen et parent supérieur. Jatasra et *al.* (1980) ont trouvé l'hétérosis par rapport à la meilleure lignée, allant de -11,9 à 4,1 %, en condition de fertilisation élevée, et de -10,5 à 4,0 %, en condition de fertilisation faible.

2.4. – *Homéostasie des variétés hybrides*

La plus grande homéostasie des hybrides par rapport aux lignées est bien connue chez les espèces où la dépression de consanguinité est forte. Mais chez les plantes autogames ou semi autogames la conclusion est moins claire. Deux études, réalisées au champ chez le colza par Lefort-Buson (1986), la première en condition de froid sévère et la deuxième en situation de compétition intense (densité élevée), ont montré, au niveau parcellaire, une chute nette de productivité chez les lignées et un maintien chez les hybrides conduisant à des valeurs d'hétérosis rapportées au parent moyen extrêmement élevées. Sur le blé, aucune tendance dans la variation de l'hétérosis n'était évidente dans l'étude de l'effet de stress hydrique chez le blé d'hiver réalisée par Labushane et van Deventer (1989). De même, Bangarwa et *al.* (1984), étudiant la stabilité des différentes générations (parents, F₁, F₂ et backcross de quatre croisements) de blé dur pour la teneur en gluten, ont trouvé que les hybrides et les lignées réagissent de la même manière aux variations environnementales. Dans l'étude de la stabilité des rendements en grain chez le blé, Jatasra et Paroda (1979), Oury et *al.* (1990 a et b) et Uddin et *al.* (1992) sont arrivés à la même conclusion.

3 - EFFETS GENETIQUES EN CAUSE ET POSSIBILITES DE FIXATION DE L'HETEROSIS

L'hétérosis est toujours la manifestation d'effets non additifs (dominance, épistasie...). Le tableau 2.6 montre que, pour les différents caractères étudiés, tous les types d'effets (additivité, dominance, épistasie) ont été observés. Il n'apparaît pas de règle générale ; par exemple, il n'y a pas plus d'interaction entre gènes pour un caractère complexe (produit) comme le rendement que pour ses composantes, alors que, selon Grafius (1959), la multiplicativité des effets de dominance pour différentes composantes d'un caractère "complexe" peut conduire à la mise en évidence d'effets de superdominance "apparenté".

Dans le cas du rendement en grain, et du nombre d'épis, il apparaît que les effets non additifs sont surtout présents lorsque les conditions de milieu sont favorables (pas de sécheresse), alors qu'en conditions défavorables il n'y a que des effets additifs (Kalashnik et Smyalovskaya, 1986). Cela est l'opposé de ce qui est classiquement observé chez les plantes allogames, ou même plus généralement chez les organismes à fécondation croisée (Breeze, 1969, Orozco, 1987)

Dans le cas où les problèmes liés à la production de semences hybrides (prix élevé des semences hybrides, difficultés d'obtention de semences en grande quantité, problèmes d'instabilité des systèmes de stérilité mâle cytoplasmique génique ou chromosomique et disponibilité de gamétocide efficace) ne sont pas résolus, est-il permis d'espérer fixer l'hétérosis pour une production de lignées ?

La fixation de l'hétérosis est l'obtention de lignées homozygotes aussi bonnes que les meilleurs hybrides. Chez les plantes allogames à forte dépression de consanguinité, il y a discontinuité entre la distribution des lignées et la distribution des hybrides. A court terme, quels que soient les effets génétiques, la fixation de l'hétérosis y est impossible. Chez les

Tableau 2.6 : Effets génétiques en cause, selon les caractères, chez les céréales

| Caractères étudiés | Effets génétiques en cause | Auteurs |
|--------------------------|---|---|
| Rendement en grain | prédominance des effets additifs | Nigmatullin et Abdulamonov, 1986 |
| | peu d'épistasie | Tapsell et Thomas, 1983 |
| | prédominance des effets non additifs | Sethi, Paroda et Singh, 1986 |
| | effets additifs, dominants et épistasie | Kasim et Youssif, 1986 |
| | additifs et non additifs | Kalashnik et Smyalovskaya, 1986 |
| Indice de récolte | additifs et non additifs | Khalifa, 1980 |
| | prédominance des effets non additifs | Sethi, Paroda et Singh, 1986 |
| Nombre d'épis par plante | additifs | Yap et Harvey, 1972, Morsi <i>et al.</i> , 1975 Carleton et Foot, 1968 et Singh <i>et al.</i> , 1973, cités par Surma et Adamski, 1982 |
| | additifs et dominants | Surma et Adamski, 1982 |
| | / | Hraska et Slezziak, 1981 ; Tapsell et Thomas, 1983 |
| | épistasie | Morsi <i>et al.</i> , 1975 |
| Nombre de grains par épi | dominance incomplète | Hraska et Slezziak, 1981 |
| | additifs et dominants | Surma et Adamski, 1982 ; Tapsell et Thomas, 1983 |
| | prédominance des effets additifs | Chaudhary <i>et al.</i> , 1974 cités par Surma et Adamski, 1982 |
| | absence d'épistasie | Johnson et Wittington, 1978 |
| | épistasie | Riggs et Hayter, 1973 cités par Tapsell et Thomas, 1983 |
| Poids de 1000 grains | additifs | Ceccarelli <i>et al.</i> , 1972 et Sharma <i>et al.</i> , 1975 cités par Chaudhary et Rai, 1982 |
| | dominants | Tapsell et Thomas, 1983 |
| | non additifs | Chaudhary et Singh, 1977 cités par Chaudhary et Rai, 1982 |
| | épistasie | Chaudhary et Rai, 1982 |
| Longueur de l'épi | additifs | Surma et Adamski, 1982 |
| | additifs et dominants | Velikovsky, 1972 cités par Surma et Adamski |
| Hauteur de la tige | additifs et dominants avec dominance incomplète | Thomas et Tapsell, 1983 |
| | non additifs | Sethi, Paroda et Singh, 1986 |
| | dominance complète et incomplète | Thomas et Tapsell, 1983 |
| Précocité à l'épiaison | superdominance | Johnson et Aksell, 1964 |
| | prédominance des effets additifs | Frey, 1954 ; Thomas et Tapsell, 1983 et Tuberosa, Sanguineti et Conti, 1986 |

plantes autogames avec une très faible dépression, la distribution des deux types de variétés se recouvre. L'haplodiploïdisation est l'une des méthodes de sélection pouvant être utilisée pour fixer rapidement l'hétérosis chez l'orge. Kasha et *al.* (1977) ont obtenu par cette méthode des lignées dont les rendements étaient aussi élevés que les hybrides F₁.

4.- PREDICTION DE LA VALEUR DES F₁

L'hétérosis est le phénomène complémentaire de la dépression de consanguinité. Lorsque des lignées pures sont croisées, les descendants montrent une augmentation des caractères qui avaient été réduits par la consanguinité. Le niveau de l'hétérosis dépend de la divergence des deux parents. La prédiction de la valeur des F₁ à partir de la distance ou de la divergence parentale peut être alors recherchée. Elle peut être mesurée à partir de données phénotypiques (Cox et Murphy, 1990) ou génotypiques. Si la corrélation est élevée, le sélectionneur a alors le moyen d'effectuer un tri préliminaire au niveau des parents sur la base d'un indice de distance (Lefort-Buson, 1986).

4.1.- *Distance parentale calculée à partir de données phénotypiques*

La récapitulation des résultats de différents auteurs sur la valeur des corrélations entre d'une part l'hétérosis et d'autre part la distance D² de Mahalanobis et la distance euclidienne montre qu'il n'existe pas toujours une relation claire entre l'hétérosis du rendement en grain et la distance (tableau 2.7).

Chez le blé tendre, Guo et *al.* (1989), travaillant sur 75 variétés, ont obtenu une corrélation hautement significative (0.740^{**}) entre la distance D² estimée et l'hétérosis sur les 2 années d'essais. Selon ces auteurs, l'hétérosis maximum pourrait être atteint par les croisements qui sont soit modérément, soit fortement divergents. Comme pour les espèces citées par Lefort-Buson (1986), les résultats sur le blé tendre des distances calculées à partir de données phénotypiques montrent que la corrélation entre cette distance et l'hétérosis est variable selon l'année et selon les génotypes utilisés. Par contre Picard et *al.* (1992), travaillant sur les données biochimiques et une étude des pédigrees de 33 variétés ayant produit 34 hybrides, n'ont observé aucune corrélation entre les distances parentales et l'hétérosis (ou aussi entre le coefficient de parenté de Malécot et l'hétérosis). De même, Singh et Behl (1991) ont obtenu des corrélations généralement non significatives entre la distance et l'hétérosis de différents caractères. Cependant, une corrélation multiple positive significative entre D², l'hétérosis et les effets d'aptitude spécifique à la combinaison (ASC) pour le poids du grain dans un milieu pour 3 classes de divergence a été observée. Ces auteurs concluent qu'un niveau compatible de divergence génétique parentale favorise l'expression de l'hétérosis. Selon Singh et Behl (1991), la divergence ne peut pas être utilisée comme seul critère pour la prédiction de la valeur des croisements. Dans cet esprit, Cox et Murphy (1990) proposent que les parents soient sélectionnés sur la base de la performance et postérieurement, que les croisements soient réalisés entre des parents divergents génétiquement et qui ont une grande valeur de distance de Goodman - euclidienne.

Tableau 2.7 : Relation entre l'hétérosis du rendement et la distance phénotypique et génotypique chez le blé tendre et le triticales

| distances | D ² de Mahalanobis | | | | euclidienne | Coefficient de parenté | | |
|--|-------------------------------------|--------------------------|----------------------------------|---------------|---------------------------------|--------------------------------------|--------------------|-----------------------------|
| | blé tendre | | | | | triticales | blé tendre | blé tendre |
| nombre de parents | 9 | 75 | 10 | | 10 | 28 | 33 | 33 |
| nombre d'individus F ₁ et F ₂ | 36 F ₁ et F ₂ | | 45 F ₁ | | 90 F ₁ | 116 F ₂ | 116 F ₂ | 34 F ₁ |
| nombre de groupes parentaux | / | 7 | 9 | 12 | 4 | / | / | / |
| liaison entre l'hétérosis du rendement et la distance | a | b | a | a | b | b | c | a |
| caractères contribuant le plus à D ² ou à G | / | / | nombre de grains pour 5 épis | hauteur | / | rendement en grain, nombre de grains | / | / |
| auteurs | Singh et Behl, 1991 | Guo <i>et al.</i> , 1989 | Raghuvanshi <i>et al.</i> , 1989 | Jatasra, 1980 | Srivastava et Arunachalam, 1977 | Cox et Murphy, 1990 | | Picard <i>et al.</i> , 1992 |

a : liaison non mise en évidence, b : liaison mise en évidence, c : liaison peu nette.

4.2.- Distance parentale calculée à partir de données génotypiques

4.2.1.- Utilisation du coefficient de parenté

Chez le blé tendre, Cox et Murphy (1990) n'ont pas trouvé de liaison entre l'hétérosis et le coefficient de parenté, tandis que sur le colza, Lefort-Buson et *al.* (1986) ont mis en évidence une relation entre ces 2 paramètres. Cependant, le coefficient de parenté de Malécot n'est pas utilisable pour la prédiction lorsque les parents sont trop éloignés l'un de l'autre.

Chez le maïs, Moll et *al.* (1965), cités par Hallauer et Miranda (1981), ont trouvé que l'expression de l'hétérosis des croisements dont les parents sont supposés être les plus divergents génétiquement était inférieure à celle exprimée entre variétés considérées comme plus proche génétiquement. Ces résultats suggèrent que la conception de la divergence génétique pour une expression maximale de l'hétérosis a des limites.

4.2.2.- Utilisation des effets d'ASC

Lorsque 2 unités (individus, lignées, populations) ont des valeurs d'aptitude spécifique à la combinaison (ASC) avec un ensemble de testeurs qui ont un comportement semblable, elles doivent être "proches" d'un point de vue génomique. Mais lorsque leur comportement spécifique moyen en combinaison avec ces testeurs est très différent, on peut penser qu'elles ont des génotypes différents, voire complémentaires. A partir de ces considérations Hanson et Casas (1968) ont bâti une distance (R^2) entre unités tenant compte des différences d'interactions gamétiques moyennes entre ces unités (ASC), 2 à 2.

Marchais (1978), travaillant sur des lignées de petit mil (*Pennisetum typhoides*) issues d'une même population F_2 , a mis en évidence une très forte corrélation entre la distance R^2 de Hanson et Casas et l'hétérosis spécifique pour 11 des 12 caractères étudiés. Par contre, la corrélation entre la distance R^2 et la valeur de la F_1 était nettement moins bonne pour tous les caractères, à l'exception du poids des grains récoltés par pied.

4.2.3. – Utilisation des marqueurs moléculaires

Les marqueurs moléculaires permettent un marquage dense du génome. Ils permettent donc une analyse précise des distances génétiques entre lignées et apportent un progrès important par rapport aux distances calculées à partir des isoenzymes (Charcosset et Gallais, 1998). Les distances calculées sur ce type de marqueurs sont aussi attendues plus efficaces pour prédire l'hétérosis que celles calculées à partir des caractères morphologiques car elles tiennent compte du génotype, alors que pour un caractère quantitatif, des lignées peuvent avoir la même valeur, mais des génotypes différents.

Une synthèse des résultats sur la valeur prédictive de ces distances (Charcosset et Gallais, 1998) pour la valeur F_1 ou l'ASC montre :

- une meilleure prédiction avec les marqueurs RFLP qu'avec les marqueurs isozymiques,
- une meilleure prédiction de l'ASC que de la valeur F_1 , ce qui est conforme à ce qui était attendu,
- un fort effet de l'apparementement entre parents : la corrélation distance – ASC diminue, voire disparaît, lorsque l'on considère que des croisements entre lignées non apparementées.

Pour nous limiter aux études faites sur les céréales, nous notons, en particulier, les travaux de Zhang et *al.* (1996) et de Xiao et *al.* (1996) chez le riz, montrant une forte corrélation de 0,77** et 0,78** entre la distance moléculaire (à partir de microsatellites) et l'hétérosis. Il y a donc là une voie prometteuse à explorer.

Tableau 2.8 : Variétés d'orge utilisées dans le croisement diallèle.

| variétés | code | provenance | origine | pedigree |
|--------------------------|------|--|---------|---|
| Jaidor | 3 | Montpellier | France | (Rika x Baladi 16) x 33 x EMA 1038 x Robur |
| Motan | 6 | Montpellier | France | (Rika x Baladi 16) x 33 x EMA 1038 x Robur |
| Beecher | 13 | station de l'ITGC Oued Smar Algérie | USA | = C16566 = Atlas/Vaughn (1940) |
| California Mariout 67 | 14 | Station de l'ITGC Oued Smar Algérie | USA | = CI 13782 = (California Mariout x CI 237) x California Mariout x Club Mariout (Schaller et Chim, 1968) |
| Prato | 15 | Station de l'ITGC Oued Smar Algérie | USA | CM 67 / 3 x Briggs / 4 / Briggs x 4 / 3 / Cali. |
| Apizaco | 16 | Station de l'ITGC Oued Smar Algérie | Mexique | PI 415011 = Promesa / Toluca |
| Ensenada | 17 | Station de l'ITGC Oued Smar Algérie | Mexique | PI 467743 = sélection locale |
| Saïda | 18 | Station de l'ITGC Oued Smar Algérie | Algérie | sélection locale |

4.2.4 – Conclusion

A partir de cette brève revue bibliographique, il apparaît que la liaison entre l'hétérosis et la distance génétique calculée à partir des données phénotypiques ou génotypiques est très variable d'une espèce à l'autre et à l'intérieur de la même espèce. Cette relation est, en outre, affectée par le milieu. La corrélation entre l'hétérosis et la distance D^2 de Mahalanobis ou la distance euclidienne de Goodman n'est que rarement significative (Lefort-Buson, 1986). De plus, le coefficient de parenté est insuffisant pour caractériser la distance génétique entre lignées. Selon Hallauer et Miranda (1981), les croisements entre des parents extrêmement divergents créent une situation où le fonctionnement harmonieux des allèles est rompu ; par conséquent les fonctions physiologiques ne sont pas aussi efficace que dans les situations où les allèles ont eu des pressions de sélection similaires.

5. - EVOLUTION DE L'HETEROSIS DE LA F_1 A LA F_2

L'utilisation des semences F_1 étant coûteuses, certains auteurs ont étudié l'importance de la dépression de consanguinité de la génération F_2 dans le but d'utiliser les semences F_2 afin de réduire le coût. Le passage de la F_1 à la F_2 par autofécondation chez les diploïdes provoque une perte de vigueur ; c'est la dépression de consanguinité. En théorie, l'hétérosis est divisé par deux lorsqu'il n'y a pas d'épistasie.

Selon Singh et Mishra (1990), 2 croisements de blé tendre sur les 45 étudiés, manifestant un hétérosis significatif en particulier pour la matière sèche totale à maturité et le rendement en grain par plante, ont montré aussi une dépression de consanguinité pour ces caractères. Cependant, un croisement sur les deux a montré un hétérosis élevé et une dépression de consanguinité plus faible que celle attendue. Jatasra et *al.* (1980) ont montré dans une étude sur la vigueur hybride d'un diallèle à 10 variétés de blé tendre que les croisements présentant un hétérosis élevé par rapport à la variété standard ont aussi un degré élevé de dépression de consanguinité dans la génération F_2 . Dans une étude comparative des hybrides F_1 , de la F_2 qui en dérive et des parents, Kratochvil et Sammons (1990) ont observé une baisse significative du rendement en grain de 8,3 % pour les populations F_2 comparées avec les hybrides F_1 . Fejer et Fedak (1978) ont montré un niveau d'hétérosis par rapport au parent moyen de 47,9 % pour la F_1 et de 11,2 % pour la F_2 pour le rendement en grain de l'orge, et de 15 % pour la F_1 et de 1 % pour la F_2 pour la hauteur des plantes. Là, la dépression de la F_1 à la F_2 était plus forte qu'attendue.

II – MATERIEL ET METHODES

1 – LE MATERIEL VEGETAL

Dans une première expérience huit cultivars ont été utilisés pour développer un croisement diallèle complet avec réciproques et parents, soit 64 traitements (tableau 2.8). Dans une deuxième expérience pour étudier l'évolution de la vigueur de la F_1 à la F_2 , deux croisements parmi les 28 réalisés ont été retenus. Enfin dans une troisième expérience la possibilité de fixation de l'hétérosis a été étudiée pour un croisement par l'observation des lignées HD qui en ont été dérivées.

Les variétés parentales n'ont pas fait l'objet d'une étude préalable sur les rendements. Elles ont été choisies cependant, afin de ne pas avoir trop de différences dans la précocité de la floraison et de pouvoir faire facilement les croisements. Ce sont des variétés de printemps qu'on peut cultiver en climat méditerranéen parce qu'elles ne nécessitent pas de vernalisation.

2 - DISPOSITIFS EXPERIMENTAUX ET TECHNIQUES CULTURALES

2.1. - *Production de grains F₁* (essais 1984 – 1985)

Nous rappelons que les dispositifs expérimentaux successifs sont décrits dans le tableau 1, p. 2. Les parents ont été semés en lignes espacées de 0,50 m. L'espacement entre plantes sur la ligne est de 0,15 m. Sept dates de semis ont été prises pour faire correspondre les dates de floraison.

2.2. - *Essai diallèle 1985/1986*

Un dispositif en blocs complets avec trois répétitions a été utilisé pour les parents et les F₁ soit 64 traitements. Chaque traitement (variété ou F₁) a été semé sur une ligne de un mètre par bloc comprenant 10 grains au maximum. L'espacement entre lignes est de 25 cm. Le semis a été fait le 21 décembre 1985. La récolte des grains F₂ a été réalisée en juin 1986.

2.3. - *Comparaison F₂ et F₁ essai 1987/1988*

Par manque de grains F₁ de la majorité des croisements, nous avons étudié 2 F₁, Prato x CM 67 (15/14) et Prato x Apizaco (15/16), les F₂ correspondantes et les variétés parentales, CM 67 (14), Prato (15) et Apizaco (16) soit 7 traitements. Le semis a été effectué le 20/12/1987. Un dispositif en blocs complets avec trois répétitions a été adopté. Le semis a été fait en lignes d'un mètre comprenant 30 grains par ligne à l'exception du croisement 15/14 F₁ pour lequel on a semé 25 grains par ligne. Les lignes étaient espacées de 25 cm. 3 lignes ont été installées pour les F₂ compte tenu de leur hétérogénéité, et seulement 1 ligne pour les F₁ et les parents.

2.4 - *Etude des lignées HD essai 1990/1991*

Dans cet essai, en plus des 53 lignées HD étudiées, nous avons introduit la F₁ et les parents pour réétudier l'hétérosis et comparer les meilleures lignées à la valeur de la F₁. L'essai comprenait donc 57 traitements (planche I, figure 2, p. 19).

Un dispositif en bloc aléatoire complet à trois répétitions a été utilisé. Le semis a été réalisé, le 04/12/90, à la main. La densité de semis a été de 30 grains par ligne de un mètre, à l'exception de 18 lignées HD pour lesquelles le nombre de grains semés varie de 6 à 26. Le nombre de grains F₂ semés dans chaque bloc est de 90 grains, soit trois lignes de un mètre. Les lignes étaient toujours espacées de 25 cm.

3.- CARACTERES ANALYSES SUR LES F₁, F₂, PARENTS ET HD

Nous avons mesuré le rendement en grain et ses composantes, le rendement en paille et différents caractères morphologiques et physiologiques. Les mesures ont été effectuées à la récolte pour le rendement en grain et ses composantes, le rendement en paille, la longueur de l'épi du maître-brin et la hauteur de la tige. Les composantes du rendement en grain sont : nombre d'épis par plante, nombre de grains par épi du maître-brin, poids de 1000 grains du maître-brin. Le maître-brin a été identifié par le fait qu'il est le premier à épier.

Rendement en grain et en paille par plante. A maturité toutes les plantes ont été arrachées, une par une, et débarrassées de leurs racines. Chaque plante a été pesée, ce qui nous donne le poids total de la partie aérienne de la plante. Le rendement en paille par plante a été obtenu en soustrayant le rendement en grain par plante du poids total de la partie aérienne. Sur chaque plante nous avons alors observé :

- le nombre d'épis,
- le poids total de la partie aérienne,
- le poids des grains par plante,
- l'indice de récolte par plante (I.R.). Cet indice a été calculé de la façon suivante :

$$\text{I.R.} = (\text{grain/plante}) / [(\text{grain} + \text{paille})/\text{plante}],$$
- le nombre de jours nécessaires pour l'épiaison (les notations ont été faites lorsque 50 % des épis ont atteint le stade épiaison et on considère que le stade épiaison est atteint lorsque l'épi sort à moitié de la gaine),
- la progression de l'oïdium dans l'essai diallèle 1985/1986.

Cet essai (1985/1986) a été attaqué par l'oïdium. Nous avons profité pour noter la progression de la maladie. Une notation de la progression verticale de la maladie, du bas de la plante vers le haut a été réalisée avec l'échelle de notation suivante :

- 0 = rien, 1 = une feuille atteinte, 2 = deux feuilles atteintes, 3 = trois feuilles atteintes, 4 = quatre feuilles atteintes, 5 = cinq feuilles atteintes.

Les caractères suivants sont mesurés sur le maître-brin,

- le nombre d'entre-noeuds, de grains, la hauteur de la tige, la longueur de l'épi et le poids des grains,
- le poids de 1000 grains, déduit du poids des grains et du nombre de grains.

4 - ANALYSE DES F₁

Il existe deux voies classiques d'interprétation des résultats de croisements diallèles, l'analyse Griffing (1956), qui repose essentiellement sur les analyses de variance, et celle présentée par Hayman (1954) qui repose sur le modèle génétique de Mather. Nous avons appliqué ces deux méthodes.

4.1. – Analyse du diallèle par la méthode Griffing

Compte tenu de l'origine non aléatoire des parents, le modèle à effets parents fixés a été utilisé avec la méthode 3 (F₁ et réciproques sans les parents) pour l'analyse de la variance des effets d'aptitudes générale et spécifique à la combinaison et des effets réciproques (effets maternels). La valeur d'un croisement est décomposée selon le modèle :

$$y_{ij} = \mu + g_i + g_j + s_{ij} + r_{ij}$$

Les composantes de la variation sont données dans le tableau 2.9. Les effets réciproques peuvent être décomposés en effets réciproques généraux et spécifiques (tableau 2.10).

4.2. Analyse de l'hétérosis général et spécifique

La performance y_{ij} d'un croisement peut être décomposée sous une forme faisant apparaître l'hétérosis h_{ij} défini comme l'avantage du croisement par rapport à la moyenne de ses parents, d'après le modèle de Eberhart et Gardner (1966) :

$$y_{ij} = \bar{v} + \frac{1}{2}v_i + \frac{1}{2}v_j + h_{ij}$$

$$y_{ii} = \bar{v} + v_i$$

v_i est la valeur propre centrée du parent i et \bar{v} est la moyenne des parents.

Tableau 2.9 : Espérances des CM d'AGC, d'ASC et d'effets réciproques

| sources de la variation | ddl | SCE | CM | espérances |
|-------------------------|----------|-----|-----|--|
| AGC | p-1 | Sg | Mg | $\sigma_e^2 + 2(p-2)\left(\frac{1}{p-1}\right)\sum g_i^2$ |
| ASC | p(p-3)/2 | Ss | Ms | $\sigma_e^2 + 2\left(\frac{2}{p(p-3)}\right)\sum_{i<j} s_{ij}^2$ |
| effets réciproques | p(p-1)/2 | Sr | Mr | $\sigma_e^2 + 2\left(\frac{2}{p(p-1)}\right)\sum_{i<j} r_{ij}^2$ |
| erreur | m | Se | M'e | σ_e^2 |

M'e = erreur de l'analyse de la variance bloc aléatoire complet / nombre de blocs.

p = 8

$$\frac{1}{7} \sum gi^2 = \frac{Mg - M'e}{2(p-2)}$$

$$\frac{1}{20} \sum s_{ij}^2 = \frac{Ms - M'e}{2}$$

Tableau 2.10 : Décomposition des effets réciproques

| sources de variation | ddl | SCE | CM |
|----------------------|--------------|-----|----|
| effets réciproques | | | |
| généraux | (p-1) | Sm | Mm |
| spécifiques | (p-1)(p-2)/2 | Sr | Mr |

Tableau 2.11 : Carrés moyens et produits moyens des écarts résiduels utilisés pour le calcul des corrélations

| sources de variation | caractères X | Y | PME |
|----------------------|-----------------|-----------|------------|
| effet génotype | CME G (x) | CME G (y) | PME G(x,y) |
| résiduelle | CME R (x) | CME R (y) | PME R(x,y) |

Les principes de décomposition factorielle peuvent être appliqués aux valeurs h_{ij} ($i \neq j$) de la manière suivante :

$$h_{ij} = \bar{h} + h_i + h_j + S_{ij}$$

\bar{h} est l'hétérosis moyen (avantage moyen),

h_i est l'hétérosis lié au parent i appelé hétérosis parental (ou général),

S_{ij} est l'hétérosis spécifique et est donc égal à l'ASC.

$$AGC_i = g_i = h_i + \frac{1}{2}v_i$$

$$v_i = l_i - \bar{l}$$

l_i = valeur du parent i et \bar{l} = moyenne de toutes les variétés.

L'analyse de la variance de l'hétérosis général a d'abord été réalisée de la même façon que celle réalisée pour les aptitudes générale et spécifique à la combinaison. Cependant, les tests ne sont qu'approximatifs (Gallais, com. personnelle). Le test de l'hétérosis général a donc été refait en utilisant une résiduelle plus appropriée sachant que :

$$\text{var } h_i = \left[\frac{1}{p(p-2)} + \frac{1}{4} \right] \sigma_e^2$$

4.3. – Corrélations entre la valeur F_1 et différents paramètres

Ces corrélations ont été réalisées dans le but de voir les possibilités de prédiction de la valeur F_1 . Elles ont été effectuées entre :

- F_1 et parent moyen,
- F_1 et AGC, F_1 et ASC,
- ASC et distance de Hanson et Casas

De plus, les corrélations entre h_i , v_i et g_i ont été étudiées. Elles permettent :

- de préciser la signification de l'AGC (est – elle due aux différences de valeur propre ?)
- de voir les possibilités de fixation de l'hétérosis sur l'examen de la corrélation h_i , v_i ; une corrélation négative est en faveur de la possibilité de la fixation de l'hétérosis.

La distance de Hanson et Casas $R^2(i,j)$ entre 2 lignées est définie par la relation :

$$R^2(i,j) = \Sigma(S_{it} - S_{jt})^2$$

S_{it} = ASC entre 2 lignées i et t

S_{jt} = ASC entre 2 lignées j et t

t étant le parent commun avec lequel les 2 lignées ont été croisées.

4.4. – Variations et corrélations environnementales au niveau F_1 et parents

Les corrélations environnementales connues avec beaucoup de précision, compte tenu des degrés de liberté, renseignent sur les liaisons physiologiques entre caractères, induites par le milieu. Elles ne sont pas aussi dépendantes de l'échantillonnage des génotypes que les corrélations phénotypiques. Elles doivent être plus faciles à interpréter. De plus on peut comparer F_1 et variétés.

Le calcul se fait à partir des produits moyens des écarts (PME) de 2 caractères décomposés comme la somme des carrés des écarts (SCE) en analyse de variance (tableau 2.11). Le coefficient de corrélation environnementale (r_E) a pour expression :

Tableau 2.12 : Espérances des carrés moyens au niveau des moyennes parcelaires des lignées HD

| sources de variation | CM | Espérance des CM |
|----------------------|--------|--------------------------------|
| Lignées HD | CM_L | $\sigma^2_r + b \sigma^2_{GL}$ |
| résiduelle | CM_R | σ^2_r |

σ^2_r = variance résiduelle

Tableau 2.13 : Espérances des CM au niveau des lignées HD avec l'effet parcelle

| sources de variation | CM | Espérance des CM |
|----------------------|------------|--|
| lignées HD | CM'_L | $\sigma^2_e + n \sigma^2_{par} + bn \sigma^2_{GL}$ |
| parcelle | CM_{par} | $\sigma^2_e + n \sigma^2_{par}$ |
| individu/parcelle | CM_e | σ^2_e |

$$CM'_L = n CM_L$$

$$CM_{par} = n CM_R$$

$$CM_e = \frac{\sum \sum (y_{ijk} - y_{ij.})^2}{\sum ddl} \quad \text{où } i \text{ et } j = \text{parents } i \text{ et } j, k = \text{répétition}$$

$$\sigma^2_{GL} = (CM'_L - CM_{par})/bn$$

σ^2_{GL} = variance entre lignées

b = nombre de blocs

n = nombre moyen de plantes par microparcelle

$$r_{E(x,y)} = \frac{PMER(x,y)}{\sqrt{(\sigma^2_{R(x)})(\sigma^2_{R(y)})}}$$

4.5. – L'analyse du diallèle par la méthode Hayman

Cette méthode peut nous apporter les renseignements sur :

- la composition en gènes dominants et en gènes récessifs des parents du diallèle,
- la dominance globale du caractère étudié et sens de cette dominance,
- l'estimation du nombre de locus intervenant sur le caractère étudié,
- le choix des géniteurs pour un programme ultérieur (possibilité de transgression).

Ce type d'essai ne peut être analysé que lorsque certaines conditions se trouvent vérifiées (Cousin, 1969) :

- 1 - les plantes doivent avoir des ségrégations de diploïdes,
- 2 - les croisements réciproques doivent être identiques,
- 3 - l'action des gènes doit être indépendante (pas d'épistasie),
- 4 - pas de multiallélisme,
- 5 - les parents doivent être homozygotes,
- 6 - les différents gènes en cause doivent être distribués indépendamment chez les parents.

L'analyse graphique de Hayman a été réalisée en utilisant un logiciel qui nous a été remis par Fouilloux de l'I.N.R.A. de Versailles.

5 – Comparaison F₁ – F₂ et parents

Le test $\overline{F_1} - 2\overline{F_2} + \overline{P} = 0$ a été conçu par Mather pour tester l'additivité des effets des différents locus (absence d'épistasie). Cependant, il ne correspond à un test d'absence d'épistasie que dans le cas d'absence de compétition. Dans notre situation, la compétition étant évidente compte tenu de la densité de culture, ce test ne pourra donc pas être interprété comme un test d'épistasie, mais seulement comme un test de déviations à l'additivité des effets des locus intragénotype (épistasie) ou intergénotypique (compétition).

6 – COMPARAISON HD, F₁ ET F₂

6.1. – Héritabilités et corrélations génétiques au niveau des HD

- Héritabilité

Au niveau des lignées HD, une première analyse de la variance a été effectuée au niveau moyenne parcellaire (tableau 2.12).

La variance résiduelle σ^2_r comprend une variation environnementale entre parcelles et une variation environnementale au niveau de chaque plante de la parcelle. Pour séparer ces deux sources de variations, il faut faire l'analyse de variance au niveau individuelle (tableau 2.13). L'estimation de σ^2_e , en effet, est nécessaire pour l'estimation de la variance génétique au niveau F₂. $\sigma_{par}^2 + \sigma_e^2$ représente alors la variation environnementale totale au niveau d'un individu. Au niveau du dispositif, l'héritabilité au sens large est alors :

$$h^2 \text{ sens large dispositif} = \frac{\sigma^2_{GL}}{\sigma^2_{GL} + \frac{1}{b}\sigma^2_r}$$

Au niveau individuel l'héritabilité au sens large est :
$$h^2 = \frac{\sigma^2_{GL}}{\sigma^2_{GL} + \sigma^2_{par} + \sigma^2_e}$$

- Corrélations génétiques (r_G) :

Le coefficient de corrélation génétique se calcule de la manière suivante :

$$rG(x, y) = \frac{PMEG(x, y)}{\sqrt{(\sigma^2_{G(x)})(\sigma^2_{G(y)})}}$$

Il n'y a pas de test direct des coefficients de corrélation génétique. On pourrait toutefois calculer un intervalle de confiance approché. Nous ne l'avons pas fait et nous ne considérerons donc que les plus fortes valeurs.

6.2. – Héritabilités au sens large, réponse à la sélection et corrélations génétiques au niveau des F_2

- Héritabilité au sens large

En faisant l'hypothèse d'absence de compétition, la variance génétique se déduit de la formule suivante :

$$\sigma^2_{G_{F_2}} = \sigma^2_{P_{F_2}} - \sigma^2_e$$

σ^2_e est la variance intraparcellaire calculée au niveau HD

$$h^2_{F_2} = \sigma^2_{G_{F_2}} / (\sigma^2_{G_{F_2}} + \sigma^2_{par} + \sigma^2_e)$$

- Corrélations génétiques

Elles se calculent selon la formule suivante :

$$rGF2(x, y) = \frac{\text{cov } GF2(x, y)}{\sqrt{(\text{var } GF2(x))(\text{var } GF2(y))}}$$

La covariance génétique s'écrit :

$$\text{cov } G_{F_2} = \text{cov } P(x, y) - \text{cov } E(x, y)$$

Les termes environnementaux sont estimés à partir de la population HD.

- Calcul du pourcentage de lignées transgressives

Par sélection des meilleures lignées, la réponse à la sélection peut être calculée. Le progrès attendu a pour expression :

$$\Delta G = ih^2 \sigma_{PL}$$

h^2 étant l'héritabilité au niveau du dispositif et σ^2_{PL} la variance phénotypique au niveau des moyennes :

$$\sigma^2_{PL} = \sigma^2_G + \frac{1}{b} \sigma^2_r.$$

Le pourcentage attendu de lignées génétiquement supérieures à la F_1 a été calculé pour les caractères agronomiques importants en supposant la valeur F_1 parfaitement connue. Il correspond au pourcentage de sélection de lignées au delà du point de troncature d'abscisse correspondant à la valeur F_1 , et à une intensité i de sélection telle que :

$$i = \frac{F_1 - \overline{HD}}{h\sigma_{GL}}$$

σ^2_{GL} étant la variance génétique entre lignées.

Ce pourcentage pourra être comparé à celui observé au niveau des valeurs phénotypiques.

6.3. – Comparaison des moyennes et des variances

La moyenne HD est égale au \overline{P} en absence d'épistasie, et, s'il y a additivité, alors nous obtenons $\overline{F_1} = \overline{F_2} = \overline{P}$, d'où l'intérêt de comparer les moyennes.

Les comparaisons de moyennes F_1 d'une part, des parents et de lignées HD d'autre part, ont été réalisées séparément à l'aide du test t de Student.

La comparaison de la moyenne des HD avec la moyenne des F_2 a été réalisée à l'aide du test Behrens - Fisher (in Fisher et Yates, 1963) pour tenir compte des variances résiduelles différentes au niveau F_2 et HD. En l'absence d'épistasie et de compétition, la variance génétique a pour structure

$$\sigma^2_{GF_2} = \sigma^2_A + \sigma^2_D,$$

et la variance des lignées HD peut s'écrire

$$\sigma^2_{GHD} = 2\sigma^2_A.$$

III - RESULTATS

REMARQUE SUR LES ESSAIS

Malgré une densité constante, la densité réelle a été variable pour les trois essais. Les coefficients de variation (essai 1986) du rendement en grain (24 %), du rendement en paille (21,1 %) et du nombre d'épis par plante (21,9 %) au niveau de l'essai F_1 et parents sont les plus élevés. La variation aléatoire de densité a entraîné une variation aléatoire plus grande qu'attendue pour le nombre d'épis ($y = 7,81 + 0,15x$, $r = 0,492^{***}$, $ddl = 62$) qui conditionne le rendement en paille et le rendement en grain, d'où les coefficients de variation élevés observés pour le rendement en grain ; il y a eu en plus les dégâts d'oiseaux. Pour l'ensemble des essais, les caractères nombre de grains du maître-brin, poids de 1000 grains, longueur de l'épi, hauteur de la tige ont une variation entre 3,4 et 10,8 et sont donc moins influencés par le milieu. Les coefficients de variation de l'indice de récolte et du poids des grains du maître-brin ont un coefficient de variation acceptable souvent compris entre 10 et 19 %. Le nombre d'entre-nœuds est le caractère avec le coefficient de variation le plus faible (2,6 à 4 %). Pour le rendement, nous avons éliminé quelques parcelles et estimé les données manquantes pour pouvoir utiliser le logiciel STAT-ITCF qui n'accepte pas de données manquantes. Après correction le coefficient de variation pour ce caractère devient de 18 %, ce qui est encore élevé.

Pour le nombre d'épis par plante, il est apparu un coefficient de corrélation significatif à très hautement significatif avec le nombre de plantes par microparcelle. Nous avons donc éliminé l'effet variation de la densité en travaillant sur les résidus de la régression ($Y_{obs} - Y_{th}$). Le coefficient de variation est alors de 15,5 %.

Les coefficients de variation au niveau des essais de comparaison $F_1 - F_2$ (essai 1988) et $F_1 - F_2 - HD$ (essai 1990) pour les caractères rendement en paille (19,5 et 17,02 %), nombre

Tableau 2.14 : F observé, moyennes et coefficients de variation au niveau de l'essai 1986 pour les parents et les deux essais 1988 et 1990 pour les F₁, F₂ et HD des différents caractères

| caractères | 1986 | | | 1988 | | | 1990 | | HD | | |
|------------|-----------|--------|--------|--|-------|--------|--------------------------------------|--------|-----------|--------|--------|
| | parents | | | F ₁ , F ₂ et parents | | | HD, F ₁ et F ₂ | | HD | | |
| | génotypes | Moy. | CV (%) | génotypes | moy. | CV (%) | génotypes | CV (%) | génotypes | Moy. | CV (%) |
| RDTGR | 5,86** | 21,87 | 18,00 | 13,33*** | 6,66 | 13,44 | 11,70*** | 22,80 | 73,64*** | 6,71 | 18,51 |
| RDTPA | 2,67 ns | 28,26 | 22,00 | 1,58 ns | 9,30 | 19,51 | 16,75*** | 17,02 | 11,22*** | 8,76 | 13,53 |
| IR | 3,29* | 0,43 | 11,78 | 4,30* | 0,40 | 8,15 | 2,41*** | 18,70 | 10,00*** | 0,42 | 13,10 |
| EPIS | 1,81 ns | 11,40 | 15,50 | 1,79 ns | 3,81 | 14,81 | 3,41*** | 24,50 | 3,19*** | 4,83 | 23,80 |
| PDSGR | 4,78** | 2,87 | 12,80 | 12,18*** | 2,17 | 10,72 | 8,33*** | 15,80 | 7,44*** | 1,89 | 15,40 |
| NBRGR | 4,34** | 66,12 | 8,50 | 13,83*** | 55,95 | 5,62 | 7,40*** | 9,10 | 7,19*** | 54,53 | 9,20 |
| PMG | 17,35*** | 43,78 | 7,80 | 11,63*** | 37,13 | 6,39 | 8,70*** | 10,80 | 6,59*** | 33,99 | 10,40 |
| LONGE | 25,71*** | 8,60 | 4,50 | 6,68*** | 7,3 | 3,37 | 14,00*** | 6,00 | 13,10*** | 7,41 | 5,90 |
| HAUT | 24,14*** | 73,65 | 5,50 | 3,95* | 73,23 | 6,67 | 51,06*** | 5,50 | 48,88*** | 75,24 | 5,20 |
| ENTRN | 26,14*** | 6,07 | 2,60 | 2,19 ns | 6,45 | 3,00 | 8,80*** | 4,00 | 8,80*** | 5,51 | 3,90 |
| EPIAI | 84,25*** | 112,15 | 0,90 | | | | 18,04*** | 1,90 | 19,63*** | 122,40 | 1,90 |
| OID | 5,80** | 43,19 | 20,40 | | | | 9,06*** | 44,82 | 9,05*** | 45,80 | 24,04 |

Tableau 2.15 : Moyennes des différents caractères des parents

| caractères | Jaidor | Motan | Beecher | CM 67 | Prato | Apizaco | Ensenada | Saïda | ppds |
|-----------------------------------|--------|--------|---------|--------|--------|---------|----------|--------|-------|
| rendement en grain | 20,46 | 19,05 | 26,52 | 20,41 | 28,25 | 20,61 | 20,09 | 22,19 | 6,49 |
| rendement en paille | 27,17 | 27,75 | 36,6 | 18,56 | 30,84 | 22,09 | 27,84 | 35,29 | - |
| indice de récolte | 0,43 | 0,41 | 0,42 | 0,52 | 0,48 | 0,48 | 0,42 | 0,39 | 0,03 |
| nombre d'épis par plante | 10,56 | 12,31 | 11,9 | 10,11 | 13,33 | 9,85 | 12,91 | 10,28 | - |
| poids des grains du maître-brin | 2,81 | 2,52 | 3,35 | 1,94 | 3,37 | 2,99 | 3,00 | 3,02 | 0,65 |
| nombre de grains par épi | 62,76 | 66,37 | 62,77 | 63,94 | 78,92 | 70,91 | 66,93 | 56,40 | 9,85 |
| poids de 1000 grains | 42,1 | 41,27 | 51,21 | 30,65 | 40,68 | 40,99 | 44,95 | 58,43 | 5,96 |
| longueur de l'épi | 10,37 | 9,97 | 6,90 | 8,49 | 7,75 | 8,50 | 8,04 | 8,76 | 0,67 |
| hauteur de la tige | 70,63 | 73,91 | 96,91 | 56,63 | 72,53 | 70,36 | 67,62 | 80,60 | 7,14 |
| nombre d'entre-noeuds | 6,01 | 6,10 | 6,13 | 5,96 | 5,63 | 5,85 | 5,78 | 7,15 | 0,24 |
| épiaison | 118,51 | 115,33 | 108,14 | 113,70 | 110,35 | 109,47 | 102,85 | 118,85 | 1,81 |
| progression verticale de l'oïdium | 24,04 | 34,74 | 51,45 | 28,38 | 48,19 | 54,70 | 48,19 | 28,38 | 14,46 |

Tableau 2.16 : Hétérosis moyen et hétérosis relatif

| Caractères | Hétérosis en % | |
|-----------------------------------|----------------|---------|
| | moyen | relatif |
| rendement en grain | -1,1 ns | - 0,7 |
| rendement en paille | -11,2** | -10,0 |
| indice de récolte | 13,5*** | 14,0 |
| nombre d'épis par plante | -15,3*** | -13,9 |
| poids des grains du maître-brin | 13,0*** | 13,3 |
| nombre de grains | 5,1 ** | 5,2 |
| poids de 1000 grains | 6,9*** | 2,8 |
| hauteur de la tige | 8,7*** | 9,4 |
| longueur de l'épi | 8,6*** | 8,8 |
| nombre d'entre-noeuds | -1,6 ns | -1,5 |
| précocité à l'épiaison | -0,2 ns | -0,2 |
| progression verticale de l'oïdium | 8,6* | 8,8 |

d'épis (14,8 et 24,5 %) rendement en grain (13,4 et 22,8 %) et poids des grains du maître-brin (10,72 et 15,8 % respectivement pour les essais 1988 et 1990) sont aussi assez élevés. Cependant, il faut remarquer que cela est dû à la présence des F_2 . Pour les autres caractères, il n'est pas particulièrement plus faible.

Le rendement moyen a été de 68,9 qx/ha pour l'essai diallèle, de 53 qx/ha pour l'essai comparaison $F_1 - F_2$ et de 62 qx/ha pour l'essai comparatif $F_1 - F_2 - HD$. Ce rendement est élevé pour les conditions de l'Algérie et par rapport aux rendements moyens obtenus en grande parcelle (14 qx/ha en 1996 lorsque la sécheresse n'est pas très importante en fin de cycle). Cela peut être dû aux effets bordure et au fait de passer du rendement de la plante au rendement hectare sans trop tenir compte des variations de densité.

1. - ANALYSE DE L'HÉTÉROSI

1.1.- Comparaison des F_1 et des parents

1.1.1. - Importance de l'hétérosi

1.1.1.1. - Moyennes des F_1 et des parents

Au niveau des moyennes F_1 - parents, les caractères les plus affectés par l'hétérosi sont le poids des grains du maître-brin (13 %), l'indice de récolte (13,5 %) et le rendement en paille (-11,2 %). Ils sont suivis par la hauteur de la tige (8,7 %), la progression verticale de l'oïdium (8,6 %), la longueur de l'épi (8,4 %), le poids de 1000 grains (6,9 %) et le nombre de grains (5,1 %) (tableaux 2.14, 2.15 et 2.16 et annexe, tableaux 1 et 2). Trois caractères apparaissent peu ou pas affectés : le rendement en grain, la précocité à l'épiaison et le nombre d'entre-nœuds. L'hétérosi est négatif au niveau du rendement en paille et du nombre d'épis. Cependant l'hétérosi varie d'un croisement à l'autre, plus ou moins selon les caractères.

1.1.1.2 - Variation selon les croisements

a) Rendement en grain, en paille et indice de récolte

Pour le rendement en grain, la moyenne des F_1 est pratiquement égale à la moyenne des parents (tableau 2.16). L'hétérosi par rapport au parent moyen varie de 25,8 % pour Jaidor x CM 67 à -22,4 % pour Apizaco x Saïda. Les croisements Jaidor x CM 67, Ensenada x Saïda, CM 67 x Apizaco, CM 67 x Prato, Jaidor x Prato, Jaidor x Apizaco et Prato x Apizaco dépassent leur parent moyen respectif de plus de 10 %.

L'hétérosi par rapport au meilleur parent varie de 19,6 % pour Ensenada x Saïda, à -32,28 % pour Beecher x CM 67. Les croisements Ensenada x Saïda, Jaidor x CM 67, Jaidor x Apizaco et CM 67 x Apizaco dépassent leur meilleur parent de plus de 10 %. L'hétérosi économique est très faible et n'est que de 3,2 % pour le meilleur croisement (Jaidor x Prato) (annexe, tableau 7). On peut déjà remarquer que les meilleurs croisements font intervenir des lignées d'origine différente (tableau 2.17).

Pour le rendement en paille, en moyenne, les F_1 sont inférieures de 10 % aux parents (tableau 2.16). L'hétérosi par rapport au parent moyen varie de 49,1 % pour le croisement CM 67 x Apizaco, à -31,4 % pour Apizaco x Ensenada. Les croisements CM 67 x Apizaco, Jaidor x CM 67 et Jaidor x Apizaco ont donné le plus fort hétérosi par rapport au parent moyen.

L'hétérosi par rapport au meilleur parent varie de 19,7 % pour Ensenada x Saïda, à -32,3 % pour Beecher x CM 67. Les croisements Ensenada x Saïda, Jaidor x CM 67 et Jaidor x Apizaco dépassent leur meilleur parent de plus de 10 %, mais sont toujours inférieurs aux meilleurs parents du dispositif. Pour le rendement en paille, il y a donc une tendance assez forte à ce que le rendement de la F_1 soit du côté du parent le plus faible.

Tableau 2.17: Croisements ayant donné l'hétérosis le plus élevé pour différents caractères (par ordre décroissant)

| Caractères | croisements |
|----------------------|--|
| rendement en grain | Ensenada (Mexique) x Saïda (Algérie) Jaidor (France.) x CM67 (USA) Jaidor (France) x Apizaco (USA) CM67 (USA) x Apizaco (USA) |
| Nombre de grains | Ensenada (Mexique) x Saïda (Algérie) Beecher (USA) x Saïda (Algérie) CM 67 (USA) x Saïda (Algérie) Motan (France) x Saïda (Algérie) |
| poids de 1000 grains | Jaidor (France) x Ensenada (Mexique) Jaidor (France) x Prato (USA) |
| indice de récolte | Jaidor (France) x CM67 (USA) CM67 (USA) x Saïda (Algérie) Motan (France) x CM 67 (USA) Ensenada (Mexique) x Saïda (Algérie) CM 67 x Saïda Beecher (USA) x Ensenada (Mexique) Motan (France) x Ensenada (Mexique) |

Pour l'indice de récolte, en moyenne les F_1 sont supérieures aux parents de 14 % (tableau 2.16). L'hétérosis par rapport au parent moyen varie de 30,9 % pour Ensenada x Saïda, à -5,6 % pour Motan x Apizaco. La majorité des croisements (19 sur 28) dépassent leur parent moyen de plus de 10 % (tableau 2.16).

L'hétérosis par rapport au meilleur parent varie de 25,4 % pour Jaidor x CM 67 à -15,5 % pour Motan x Apizaco (annexe, tableau 7).

b) Composantes du rendement en grain

Pour le nombre de grains, les F_1 sont en moyenne supérieures au parent de 5,1 % (tableau 2.16). L'hétérosis par rapport au parent moyen varie de 15,68 % pour Ensenada x Saïda, à -4,9 % pour Motan x Prato (annexe, tableau 8). Les croisements Ensenada x Saïda, Beecher x Ensenada, Beecher x Saïda, CM 67 x Saïda et Prato x Ensenada ont donné un hétérosis par rapport au parent moyen supérieur à 10 %.

L'hétérosis par rapport au meilleur parent varie de 9,7 % pour Beecher x Ensenada, à -12,5 % pour Prato x Saïda (annexe, tableau 8).

Pour le poids de 1000 grains, en moyenne les F_1 sont pratiquement égales aux parents (l'hétérosis moyen est de 2,8 %) (tableau 2.16). L'hétérosis par rapport au parent moyen varie de 19,4 % pour Jaidor x Ensenada, à -17,7 % pour CM 67 x Saïda. Les croisements Jaidor x Ensenada, Prato x Saïda, Beecher x Apizaco, Jaidor x Prato, Jaidor x Saïda et Motan x Saïda ont donné un hétérosis par rapport au parent moyen égal ou supérieur à 10 %. L'hétérosis par rapport au meilleur parent varie de 15,6 % pour Jaidor x Ensenada, à -27,7 % pour CM 67 x Saïda. Seuls les croisements Jaidor x Ensenada (15,6 %) et Jaidor x Prato (11,7 %) ont présenté un hétérosis supérieur à 10 % (annexe, tableau 8).

Pour le poids des grains du maître-brin, les F_1 sont en moyenne supérieures de 13 % aux parents (tableau 2.16). Les valeurs moyennes de l'hétérosis par rapport au parent moyen varient de 30,56 % pour le croisement CM 67 x Saïda, à -13,8 % pour Jaidor x Motan. Les meilleurs hétérosis sont donnés par CM 67 x Saïda, CM 67 x Apizaco, Motan x Saïda et Ensenada x Saïda. L'hétérosis par rapport au meilleur parent varie de 26,5 % pour Ensenada x Saïda, à -18,2 % pour Jaidor x Motan. Les croisements Ensenada x Saïda, Jaidor x Apizaco, Beecher x Saïda, Prato x Ensenada, Beecher Apizaco, Apizaco x Saïda, Apizaco x Ensenada, Motan x Saïda et Prato x Apizaco dépassent de plus de 10 % le meilleur parent (annexe, tableau 8).

c) Caractères morphologiques

Pour la hauteur de la tige, en moyenne, les F_1 dépassent les parents de 9,0 % (tableau 2.16). Les valeurs d'hétérosis par rapport au parent moyen varient de 24,4 % pour CM 67 x Ensenada, à -11,6 % pour Beecher x Prato. L'hétérosis par rapport au meilleur parent varie de 17,4 % pour Jaidor x Apizaco, à -22,7 % pour Beecher x Prato (annexe, tableau 9).

Pour la longueur de l'épi, en moyenne, les F_1 sont supérieures aux parents de 8 % (tableau 2.16). Les valeurs d'hétérosis par rapport au parent moyen varient de 30,4 % pour Beecher x Prato, à -7,4 % pour Jaidor x Motan. Les valeurs d'hétérosis par rapport au meilleur parent varient de 23,2 % pour Beecher x Prato, à -14,3 % pour Motan x Ensenada. Les croisements Beecher x Prato, Prato x Apizaco, Beecher x CM 67 et CM 67 x Apizaco ont présenté des valeurs d'hétérosis par rapport au meilleur parent égales ou supérieures à 10 % (annexe, tableau 8).

Tableau 2.18 : Estimations des variances résiduelles des hybrides F₁ et des lignées parentales

| caractères | parents (ddl = 14) | | C.V. en % | F ₁ (ddl = 110) | | F observé σ_1/σ_2 |
|-----------------------------|-----------------------|----------------------|-----------|-------------------------------|---------|----------------------------------|
| | C.V.en % | σ_1^* | | σ_2^* | | |
| rendement en grain (g) | 18,00 | 96,66 | 18,65 | 70,94 | 1,36 ns | |
| rendement en paille (g) | 22,80 | 145,40 | 21,17 | 88,21 | 1,64 ns | |
| indice de récolte | 11,78 | $5,22 \cdot 10^{-3}$ | 13,75 | $4,93 \cdot 10^{-3}$ | 1,05 ns | |
| nombre d'épis/plante | 15,50 | 19,37 | 21,91 | 13,68 | 1,41 ns | |
| poids des grains du M.B (g) | 12,80 | 0,58 | 10,59 | 0,54 | 1,08 ns | |
| nombre de grains | 8,50 | 146,39 | 8,15 | 118,17 | 1,23 ns | |
| poids de 1000 grains | 7,80 | 54,73 | 8,06 | 39,59 | 1,38 ns | |
| longueur de l'épi | 4,50 | 0,76 | 5,71 | 0,56 | 1,36 ns | |
| hauteur de la tige | 5,50 | 31,92 | 5,91 | 29,11 | 1,09 ns | |
| nombre d'entre-nœuds | 2,60 | 0,21 | 3,70 | 0,21 | 1,01 ns | |

N.B. Les caractères stade épiaison et progression verticale de l'oïdium n'ont pas été étudiés car les notations représentent une moyenne par microparcelle.

* variation intraparcellaire.

Tableau 2.19 : Matrice de corrélations phénotypique F₁ (ddl =26)

| | RDTGR | NBRGR | PMG | IR | EPIS | HAUT | LONGE | ENTRN | EPIAI | PDSGR | OIDVERT |
|--------|--------|--------|-------|---------|--------|---------|--------|---------|----------|---------|---------|
| RDTPA | 0,48** | -0,14 | 0,38* | 0,01 | 0,49** | 0,56** | 0,45* | 0,45* | 0,22 | 0,33 | -0,10 |
| RDTGR | | 0,57** | 0,18 | 0,58*** | 0,49** | 0,32 | 0,14 | 0,15 | -0,07 | 0,68*** | 0,07 |
| NBRGR | | | -0,25 | 0,85*** | 0,09 | -0,14 | -0,32 | -0,48** | -0,61*** | 0,50** | 0,39* |
| PMG | | | | -0,26 | -0,15 | 0,61*** | -0,19 | 0,50** | 0,18 | 0,56** | 0,20 |
| IR | | | | | 0,23 | -0,08 | -0,22 | -0,34 | -0,54** | 0,39* | 0,23 |
| EPIS | | | | | | -0,14 | 0,48** | 0,12 | 0,07 | 0,01 | -0,29 |
| HAUT | | | | | | | 0,06 | 0,47** | 0,03 | 0,61*** | 0,27 |
| LONGE | | | | | | | | 0,18 | 0,39* | -0,22 | -0,49** |
| ENTREN | | | | | | | | | 0,62*** | 0,16 | -0,31 |
| EPIAI | | | | | | | | | | -0,27 | -0,48** |
| PDSGR | | | | | | | | | | | 0,35 |

Tableau 2.20 : Matrice de corrélations phénotypiques au niveau des parents (ddl =6)

| | RDTGR | NBRGR | PMG | IR | EPIS | HAUT | LONGE | ENTRN | EPIAI | PDSGR | OIDVERT |
|--------|-------|-------|--------|-------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|---------|
| RDTPA | 0,69 | -0,17 | 0,87** | -0,06 | 0,40 | 0,87** | -0,33 | 0,48 | 0,03 | 0,74* | 0,14 |
| RDTGR | | 0,52 | 0,39 | 0,56 | 0,44 | 0,64 | -0,55 | -0,17 | -0,29 | 0,89** | 0,54 |
| NBRGR | | | -0,41 | 0,81 | 0,56 | -0,18 | -0,24 | -0,77* | -0,47 | 0,36 | 0,59 |
| PMG | | | | -0,14 | 0,04 | 0,76 | -0,20 | 0,73* | 0,10 | 0,64 | 0,08 |
| IR | | | | | -0,21 | 0,14 | -0,37 | -0,56 | -0,48 | 0,55 | 0,81* |
| EPIS | | | | | | 0,20 | -0,32 | -0,43 | -0,52 | 0,44 | 0,43 |
| HAUT | | | | | | | -0,40 | 0,37 | -0,06 | 0,69 | 0,32 |
| LONGE | | | | | | | | 0,16 | 0,69 | -0,48 | -0,74* |
| ENTREN | | | | | | | | | 0,59 | 0,00 | -0,45 |
| EPIAI | | | | | | | | | | -0,35 | -0,83 |
| PDSGR | | | | | | | | | | | 0,60 |

RDTGR = rendement en grain
RDTPA = rendement en paille
NBRGR = nombre de grains
PMG = poids de 1000 grains
IR = indice de récolte
EPIS = nombre d'épis par plante

HAUT = hauteur de la tige
LONGE = longueur de l'épi
ENTRN = nombre d'entre-nœuds
EPIAI = épiaison
PDSGR = poids des grains du maître-brin
OIDVERT = progression verticale de l'oïdium

Pour le nombre d'entre-nœuds, en moyenne, les F_1 sont pratiquement égales aux parents (-1,5 %) (tableau 2.16). L'hétérosis par rapport au parent moyen varie de 4,3 % pour Jaidor x Prato, à -9,8 % pour Beecher x Saïda. L'hétérosis par rapport au meilleur parent varie de 2,3 % pour Jaidor x CM 67, à -16,4 % pour Beecher x Saïda (annexe, tableau 9).

d) Précocité à l'épiaison

Il y a des croisements qui augmentent de précocité, d'autres qui sont plus tardifs que les parents et d'autres qui sont de précocité égale au parent moyen. En moyenne, l'hétérosis est très faible. L'hétérosis par rapport au parent moyen varie de 2,7 % pour Beecher x Ensenada, à -5,6 % pour CM 67 x Apizaco. L'hétérosis par rapport au meilleur parent varie de 1,0 % pour Jaidor x Motan, à -8,8 % pour Jaidor x Ensenada (annexe, tableau 9).

e) Progression verticale de l'oïdium

Les hybrides ont un avantage moyen par rapport aux parents de 8,6 % (tableau 2.16). L'hétérosis par rapport au parent moyen varie de 66,4 % pour Motan x Saïda, à -36,3 % pour Jaidor x Beecher. L'hétérosis par rapport au meilleur parent varie de 57,4 % pour Motan x Saïda, à -53,3 % pour Jaidor x Beecher (annexe, tableau 9).

1.1.2. - Comparaison des distributions

Malgré le faible nombre de parents, la distribution des moyennes F_1 , construite avec 28 valeurs se rapproche d'une courbe en cloche pour la plupart des caractères (fig. 2.1 et 2.2 p. 71 et 72). Le poids des grains du maître-brin, le nombre d'entre-nœuds, le poids de 1000 grains et le nombre de grains présentent toutefois une certaine dissymétrie. La distribution des parents, n'a aucune raison de ressembler à ce type de courbe compte tenu de leur faible nombre et du fait qu'ils ne représentent pas un échantillon d'une même population. L'écart entre les moyennes des F_1 et des parents varie selon les caractères, mais il y a toujours une zone de recouvrement très forte entre les deux distributions. Par conséquent, F_1 et parents semblent appartenir à la même distribution.

1.1.3. - Variances résiduelles des hybrides F_1 et des parents

Le test du rapport de la plus grande variance résiduelle à la plus petite montre que l'hypothèse d'homogénéité des variances résiduelles des deux populations parentales et hybrides F_1 peut être acceptée. Cependant, l'ensemble des caractères montrent une tendance à la supériorité de la variance associée aux lignées parentales sur celle associée aux hybrides, surtout au niveau du rendement en paille ; ceci pourrait traduire une meilleure homéostasie des hybrides (tableau 2.18).

1.2- Comparaison des corrélations phénotypiques et environnementales au niveau des F_1 et des parents

1.2.1. - Corrélations phénotypiques

Globalement les deux matrices de corrélations au niveau F_1 (ddl = 26) et parents (ddl = 6) apparaissent très proches (tableaux 2.19 et 2.20). A part la relation entre l'oïdium et l'indice de récolte, toutes les autres corrélations sont très comparables, si l'on tient compte du très faible nombre de degrés de liberté pour les corrélations au niveau des parents. Nous n'allons commenter que les corrélations les plus importantes.

Tableau 2.21 : Matrice de corrélations environnementales au niveau des F₁ (ddl = 54)

| | RDTGR | NBRGR | PMG | IR | EPIS | HAUT | LONGE | ENTRN | EPIAI | PDSGR | OIDVERT |
|--------|-------------|-------------|-------|-------|-------------|-------------|-------|-------------|-------|-------------|-------------|
| RDTPA | 0,66 | 0,60 | -0,18 | -0,15 | 0,66 | 0,49 | 0,36 | -0,07 | -0,11 | 0,21 | -0,20 |
| RDTGR | | 0,56 | 0,17 | 0,26 | 0,12 | 0,76 | 0,29 | 0,39 | -0,02 | 0,50 | -0,28 |
| NBRGR | | | -0,02 | 0,28 | 0,10 | 0,44 | 0,48 | 0,17 | -0,07 | 0,65 | -0,14 |
| PMG | | | | 0,41 | 0,19 | 0,10 | -0,22 | 0,56 | 0,35 | 0,27 | 0,09 |
| IR | | | | | -0,05 | 0,41 | 0,33 | 0,32 | -0,07 | 0,70 | -0,48 |
| EPIS | | | | | | 0,28 | 0,22 | 0,17 | -0,31 | 0,03 | 0,22 |
| HAUT | | | | | | | 0,44 | 0,32 | -0,26 | 0,36 | -0,45 |
| LONGE | | | | | | | | -0,13 | 0,04 | 0,42 | -0,46 |
| ENTREN | | | | | | | | | -0,37 | 0,38 | -0,26 |
| EPIAI | | | | | | | | | | -0,06 | 0,50 |
| PDSGR | | | | | | | | | | | -0,41 |

En gras = corrélations égales ou supérieures à 0,500

 $R_{0,05[54]} = 0,26$ **Tableau 2.22 : Matrice de corrélations environnementales au niveau des parents (ddl = 14)**

| | RDTGR | NBRGR | PMG | IR | EPIS | HAUT | LONGE | ENTRN | EPIAI | PDSGR | OIDVERT |
|--------|-------------|-------|--------------|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|---------|
| RDTPA | 0,58 | 0,18 | 0,03 | -0,72 | 0,59 | 0,37 | 0,51 | -0,04 | -0,41 | 0,00 | -0,01 |
| RDTGR | | 0,36 | -0,55 | -0,01 | 0,28 | 0,54 | 0,45 | -0,22 | -0,07 | 0,38 | 0,31 |
| NBRGR | | | 0,28 | -0,04 | 0,11 | -0,05 | 0,78 | -0,17 | -0,00 | 0,71 | -0,02 |
| PMG | | | | 0,32 | 0,18 | 0,12 | 0,17 | 0,15 | 0,48 | 0,73 | 0,13 |
| IR | | | | | -0,45 | 0,01 | -0,49 | 0,32 | 0,63 | 0,27 | 0,03 |
| EPIS | | | | | | 0,22 | 0,38 | -0,13 | -0,24 | -0,18 | 0,17 |
| HAUT | | | | | | | -0,02 | 0,78 | -0,24 | -0,01 | 0,41 |
| LONGE | | | | | | | | -0,34 | -0,42 | 0,44 | 0,08 |
| ENTREN | | | | | | | | | 0,18 | 0,11 | 0,48 |
| EPIAI | | | | | | | | | | 0,45 | -0,30 |
| PDSGR | | | | | | | | | | | 0,02 |

 $R_{0,05[14]} = 0,49$

RDTGR = rendement en grain
 RDTPA = rendement en paille
 NBRGR = nombre de grains
 PMG = poids de 1000 grains
 IR = indice de récolte
 EPIS = nombre d'épis par plante

HAUT = hauteur de la tige
 LONGE = longueur de l'épi
 ENTRN = nombre d'entrenoeuds
 EPIAI = épiaison
 PDSGR = poids des grains du maître-brin
 OIDVERT = progression verticale de l'oïdium

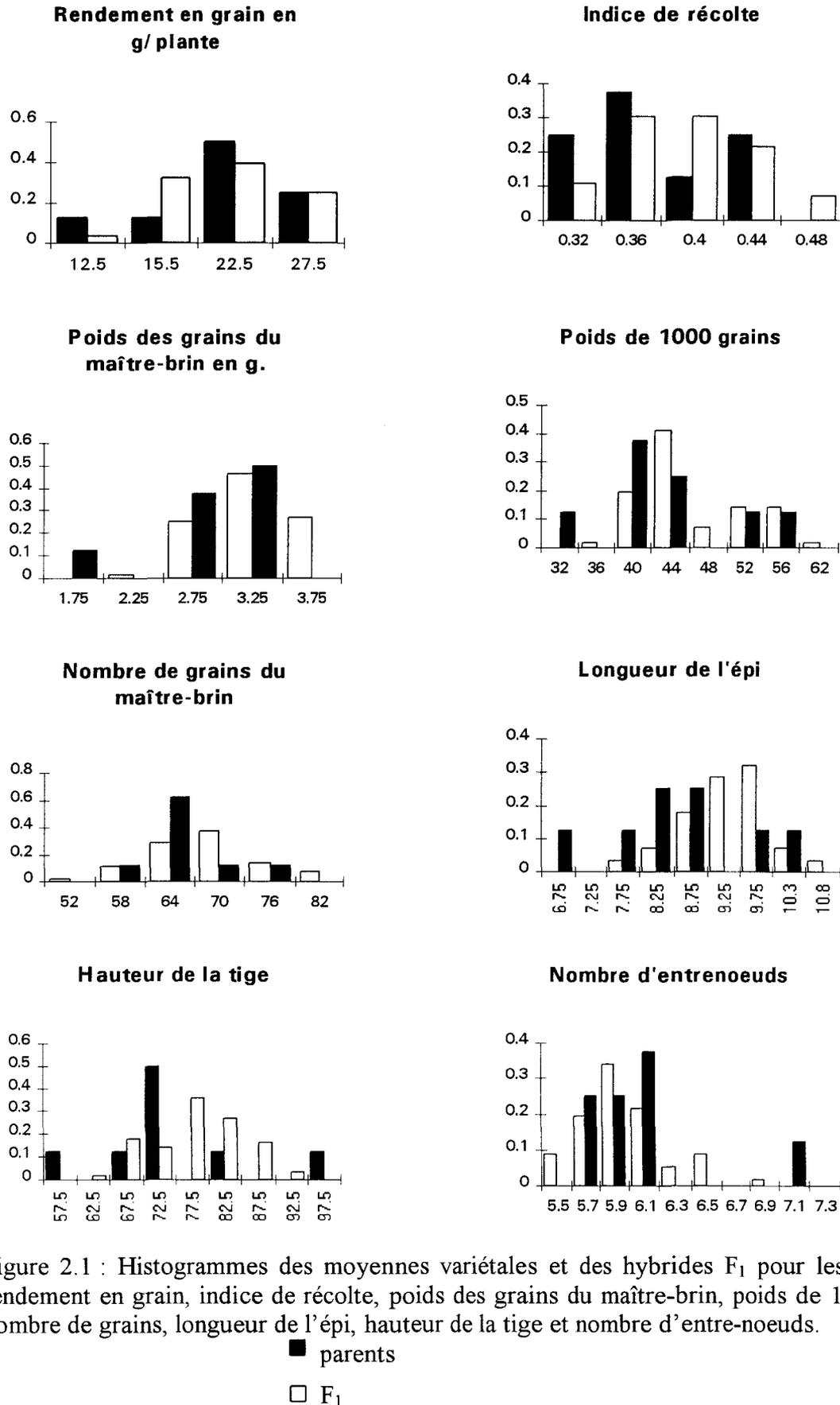


Figure 2.1 : Histogrammes des moyennes variétales et des hybrides F₁ pour les caractères rendement en grain, indice de récolte, poids des grains du maître-brin, poids de 1000 grains, nombre de grains, longueur de l'épi, hauteur de la tige et nombre d'entre-nœuds.

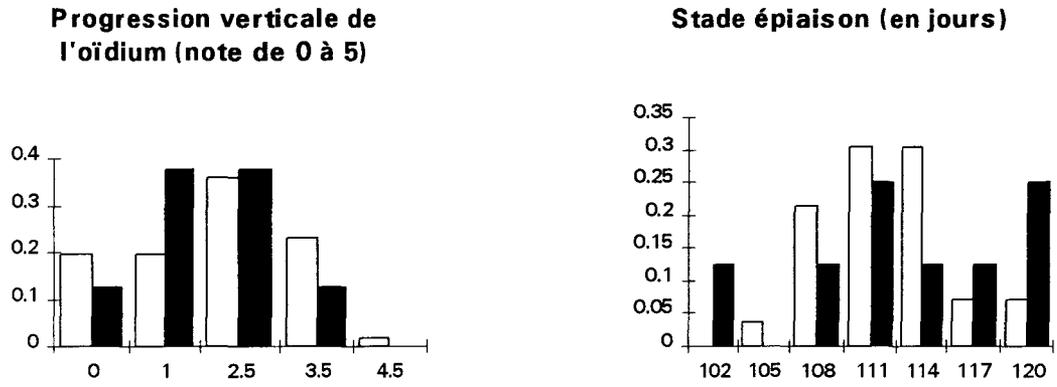


Figure 2.2 : Histogrammes des moyennes variétales et hybrides F₁ pour l'épiaison et la progression verticale de l'oidium.

■ parents
□ F₁

1.2.1.1. – Caractères liés au rendement en grain et en paille

- Rendement en grain et ses composantes

Que ce soit au niveau des F_1 ou des parents, la corrélation entre le rendement en grain par plante et le nombre de grains est plus forte que la corrélation entre le rendement et le poids de 1000 grains. Seule la corrélation entre le rendement en grain et le nombre de grains au niveau F_1 est significative ($r = 0,57^{**}$). Le rendement en grain par plante est aussi corrélé de façon hautement significative avec le poids des grains du maître-brin chez les deux populations ($r = 0,68^{**}$ pour les F_1 et $r = 0,88^{**}$ pour les parents). Il s'agit de caractères ayant une signification très proche. Cependant, pour ce caractère, on observe un rôle aussi important du poids de 1000 grains ($r = 0,56^{**}$) que du nombre de grains ($r = 0,50^{**}$) au niveau des F_1 .

- Rendement en grain et caractères morphologiques

La corrélation entre d'une part le rendement en grain par plante et d'autre part la hauteur de la tige, la longueur de l'épi et le nombre d'entre-nœuds n'est pas significative. Par contre, la corrélation entre le rendement en grain et le rendement en paille est positive chez les deux populations, et significative au niveau des F_1 ($r = 0,48^{**}$).

Pour le poids des grains du maître-brin, seule la corrélation avec la hauteur de la tige est significative au niveau des F_1 ($r = 0,61^{**}$).

Comme attendu, le rendement en paille et la hauteur de la tige sont très liés ($r = 0,87^{**}$ chez les parents et $0,56^{**}$ chez les F_1).

- Rendement en grain et précocité à l'épiaison

La corrélation entre le rendement en grain et la tardiveté à l'épiaison est négative et non significative que ce soit au niveau de la plante ou du maître-brin. Malgré la faible valeur des corrélations, il est intéressant de noter que plus les variétés sont précoces plus le poids des grains du maître-brin sera élevé. Ceci est d'autant plus vrai que les conditions de milieu en Algérie (température élevée et sécheresse) sont défavorables en fin de cycle.

1.2.1.2. – Caractères liés aux composantes du rendement en grain

Le nombre de grains et le poids de 1000 grains apparaissent assez indépendants entre eux.

Le nombre de grains est corrélé négativement avec la tardiveté à l'épiaison au niveau des F_1 ($r = -0,61^{**}$). Cette corrélation traduit le fait que les génotypes tardifs ont été stressés par la sécheresse de fin de cycle.

Peu de caractères morphologiques sont liés au nombre de grains. Seule la corrélation entre le nombre de grains et le nombre d'entre-nœuds est significative au niveau des deux populations ($r = -0,48^{**}$ et $-0,76^*$ respectivement pour les F_1 et les parents).

Le poids de 1000 grains semble plus lié aux caractères morphologiques. Ainsi ce caractère est lié à la hauteur de la tige ($r = 0,61^{**}$ chez les F_1 et de $0,76^*$ chez les parents). Il est aussi lié au nombre d'entre-nœuds ($r = 0,50^{**}$ et $0,72^*$ respectivement chez les F_1 et les parents) et au rendement en paille que ce soit au niveau des F_1 ($r = 0,38^*$) ou au niveau des parents ($r = 0,87^{**}$).

1.2.1.3. – Caractères liés à l'indice de récolte

L'indice de récolte est corrélé négativement avec la précocité ($r = -0,54^{**}$ au niveau des F_1). Il est lié positivement au nombre de grains chez les deux populations ($r = 0,85^{***}$ chez les F_1 et de $0,81^{**}$ chez les parents).

1.2.2. - Corrélations environnementales

A la différence des corrélations phénotypiques au niveau des moyennes, les corrélations environnementales sont connues avec plus de précision ($ddl = 14$) au niveau des parents. Elles peuvent donc être comparées aux corrélations environnementales au niveau F_1 pour voir si elles traduisent des différences de fonctionnement des deux types de populations. Nous ne considérerons toutefois que les différences suffisamment fortes. On peut alors noter des différences au niveau des corrélations suivantes (tableau 2.21 et 2.22) :

- rendement en paille – nombre de grains (assez forte au niveau F_1 , $r_e = 0,60^{***}$, faible au niveau des parents $r_e = 0,18$ ns),
- nombre des entre-nœuds – poids de mille grains ($r_e = 0,56^{**}$ au niveau F_1 , $0,15$ ns au niveau des parents),
- rendement en paille – indice de récolte : très négative au niveau des variétés ($r_e = -0,72^{***}$) et nulle au niveau F_1 ,
- rendement en grain – poids de mille grains : négative au niveau des variétés ($r_e = -0,55^{**}$) et positive ($r_e = 0,17$ ns) au niveau F_1 ,
- poids des grains du maître-brin – poids de mille grains : forte au niveau des parents, faible au niveau F_1 , l'inverse étant observé avec la corrélation poids des grains du maître-brin – indice de récolte,
- hauteur de la tige – nombre d'entre-nœuds ($r_e = 0,78^{***}$ au niveau des parents, $0,3$ ns au niveau F_1).

Ces modifications significatives semblent donc traduire des différences de réaction au milieu des F_1 et de leurs parents. Cependant, elles ne traduisent pas une plus grande homéostasie, puisque, dans ce cas, il devrait y avoir moins de corrélations significatives au niveau F_1 qu'au niveau des parents.

1.2.3. - Discussion sur les corrélations F_1

- Rendement en grain et ses composantes

Les relations entre les composantes du rendement et le rendement en grain confirment les résultats des travaux antérieurs à savoir l'importance du nombre de grains au niveau de la plante et donc du tallage sur la productivité (Austenson et Walton, 1970 cités par Nass, 1973, Nass, 1966, Mc Neal, 1960, cités par Mc Neal et *al.*, 1974, Hanifi – Mekliche, 1983, Gabillard, 1983). Cependant, bien qu'il détermine plus de 50 % de variation du rendement en grain par plante, le maître-brin présente une différence de comportement par rapport à la plante puisqu'à son niveau le poids de mille grains joue un rôle aussi fort que le nombre de grains (corrélations avec le rendement en paille, le poids de 1000 grains et la hauteur de la tige). Ceci peut s'expliquer par le fait qu'épiant le premier, il profite des conditions de milieu plus favorables au remplissage du grain que pour les autres épis. De plus, il pourrait avoir une certaine priorité (dominance trophique).

Le rendement en grain peut être limité par la quantité d'assimilats fournis aux grains par la photosynthèse (sources), mais aussi par les capacités de stockage des assimilats par les grains. Ces deux types d'explications correspondent généralement à des conditions de milieu relativement différentes (Thorne, 1973 cité par Masle – Meynard, 1980). En effet, les études

conduites dans des conditions de milieu très favorables à une absorption tardive de nutriments et à une activité photosynthétique importante et prolongée, aboutissent généralement à la conclusion que c'est la capacité d'accumulation des grains qui limite leur poids final (Rawson et Evans, 1971, Willey et Holliday, 1971 cités par Masle – Meynard, 1980). Ce qui n'est sans doute pas le cas dans notre expérience. La conclusion selon laquelle c'est la fourniture de matériaux par le reste de la plante qui limite la croissance du grain, est au contraire celle d'expériences où les conditions de croissance ont été moins favorables, amenant une réduction de la durée de vie des feuilles (Fischer et Kohn, 1966 dans Evans, 1975, Puckridge, 1968 cités par Masle – Meynard, 1980).

L'importance relative des sources et des puits apparaît d'autre part dépendante du stade de maturation du grain. Au début du remplissage du grain, la taille du grain est encore faible et la surface photosynthétisante encore élevée. Au contraire, la vitesse de croissance du grain s'accroît et la sénescence des organes verts commençant, la fourniture des matériaux de remplissage risque de devenir limitante (Watson, 1971 in Masle – Meynard, 1980). Dans notre cas, on peut considérer que le maître-brin se développe dans un milieu très favorable à une absorption tardive des nutriments et que l'ensemble de la plante subit les aléas climatiques (température élevée et sécheresse) en fin de cycle qui font qu'au niveau du maître-brin, le poids de mille grains est aussi important que le nombre de grains, alors que pour l'ensemble de la plante c'est le nombre de grains qui est le plus important (tableaux 2.19 et 2.20).

- Rendement en grain et hauteur de la tige

L'existence d'une relation élevée entre la hauteur de la tige et le poids des grains du maître-brin au niveau des F_1 , montre une participation de la tige dans l'élaboration du rendement. La relation rendement en grain – rendement en paille a la même signification. Nos résultats sont en accord avec ceux trouvés par Law et *al.* (1978) et Johnson et *al.* (1966). Cependant, selon Wardlaw et Porter (1967) cités par Evans et Rawson (1970 a), la contribution des hydrates de carbone stockés dans la tige principale est faible et n'est que de 5 à 10 % du poids final du grain.

- Précocité et progression verticale de l'oïdium

Les corrélations élevées et négative entre la précocité à l'épiaison et la progression verticale montrent que les géotypes les plus tardifs sont les moins attaqués. En effet, l'apparition de la dernière feuille, du col de l'épi et de l'épi des géotypes tardifs se fait à des périodes où l'humidité de l'air nécessaire au développement de la maladie est plus faible. Il est bien connu que ces trois parties de la plante sont celles qui participent en dernier au remplissage du grain. Pendant le mois qui suit la floraison, la surface photosynthétique utile est constituée essentiellement par la feuille culmaire et par le dernier entre-nœud (y compris la gaine de la feuille culmaire) et par l'épi (Baldy, 1974).

1.3. – Analyse des effets d'aptitude à la combinaison et de l'hétérosis

1.3.1. – Aptitude à la combinaison

L'ensemble des caractères étudiés montrent des effets d'AGC et d'ASC hautement significatifs à très hautement significatifs (tableau 2.23 et annexe, tableaux 3 et 4) à l'exception des effets d'ASC de l'indice de récolte et de la progression verticale de l'oïdium. Pour la majorité des caractères la variation due à l'AGC est plus importante que la variation due à l'ASC. Ce n'est que pour le rendement en grain et le rendement en paille que la variation due à l'ASC apparaît supérieure à la composante d'AGC (tableau 2.24).

Tableau 2.23 : Analyse de la variance des différents caractères des F₁ selon la méthode Griffing

| caractères | géotypes (ddl = 55) | AGC (ddl = 7) | ASC (ddl = 20) | effets réciproques | | hétérosis | |
|-----------------------------------|------------------------|------------------|-------------------|-----------------------|---------------------------|-----------|-------|
| | | | | généraux (ddl = 7) | spécifiques (ddl = 21) | parental | CV % |
| rendement en grain | 1,62* | 4,75*** | 2,54** | 0,10 ns | 0,20 ns | 0,94 ns | 18,65 |
| rendement en paille | 1,64* | 3,94*** | 2,37** | 0,85 ns | 0,44 ns | 2,63** | 21,17 |
| indice de récolte | 1,61* | 2,90** | 1,36 ns | 0,81 ns | 0,83 ns | 2,26 ns | 13,75 |
| nombre d'épis par plante | 1,06 ns | 1,70 ns | 1,19 ns | 1,23 ns | 0,86 ns | 1,06 ns | 21,91 |
| pois des grains du maître-brin | 4,77*** | 24,03*** | 3,25*** | 1,11 ns | 1,02 ns | 3,18*** | 10,57 |
| nombre de grains par épi | 4,66*** | 50,50*** | 11,23*** | 1,12 ns | 1,13 ns | 3,24*** | 8,15 |
| pois de 1000 grains | 7,87*** | 32,28*** | 3,94*** | 0,75 ns | 1,35 ns | 1,64 ns | 8,07 |
| longueur de l'épi | 5,13*** | 21,00*** | 4,58*** | 4,39** | 0,61 ns | 5,08*** | 5,72 |
| hauteur de la tige | 4,22*** | 39,55*** | 4,59*** | 0,54 ns | 0,86 ns | 5,78*** | 5,91 |
| nombre d'entre-noeuds | 4,98*** | 23,76*** | 2,45** | 3,12** | 1,73 ns | 2,85** | 3,71 |
| épiaison | 13,67*** | 46,46*** | 5,54*** | 1,74 ns | 1,26 ns | 2,72** | 1,54 |
| progression verticale de l'oïdium | 7,09*** | 48,94*** | 0,68 ns | 0,49 ns | 0,76 ns | 5,13*** | 17,48 |

Tableau 2.24 : Composantes de la variation de l'aptitude à la combinaison

| caractères | AGC | ASC | (1)/(2) |
|--------------------------------|------------------------|------------------------|---------|
| | $2 \sum gi^2/7$ (1) | $\sum Sij^2/20$ (2) | |
| rendement en grain | 17,88 | 22,36 | 0,80 |
| Rendement en paille | 17,09 | 28,96 | 0,59 |
| indice de récolte | $2,96 \cdot 10^{-3}$ | $1,46 \cdot 10^{-3}$ | 2,02 |
| nombre d'épis par plante | 0,58 | 0,49 | 1,19 |
| épiaison | 42,25 | 7,90 | 5,35 |
| pois des grains du maître-brin | 0,46 | 0,17 | 2,71 |
| nombre de grains | 261,51 | 170,39 | 1,53 |
| pois de 1000 grains | 108,10 | 4,11 | 26,26 |
| longueur de l'épi | 0,98 | 0,60 | 1,62 |
| hauteur de la tige | 146,54 | 47,67 | 3,07 |
| nombre d'entre-noeuds | 0,27 | 0,05 | 5,28 |
| oïdium verticale | 462,64 | 5,97 | 77,42 |

Tableau 2.25 : AGC des parents pour les différents caractères.

| caractères | Parents | | | | | | | |
|------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|
| | Jaidor | Motan | Beecher | CM 67 | Prato | Apizaco | Ensenada | Saïda |
| RDTGR | 0,07 | -3,07 | 0,72 | -0,09 | 3,78 | -0,99 | -0,71 | 0,29 |
| RDTPA | 1,56 | -0,53 | 0,48 | -1,23 | -0,23 | -0,99 | -2,34 | 3,29 |
| IR | $-16,7 \cdot 10^{-3}$ | $-37,6 \cdot 10^{-3}$ | $-8,62 \cdot 10^{-3}$ | $14,0 \cdot 10^{-3}$ | $31,1 \cdot 10^{-3}$ | $9,8 \cdot 10^{-3}$ | $21,1 \cdot 10^{-3}$ | $-13,1 \cdot 10^{-3}$ |
| EPIS | 0,24 | 0,21 | 1,49 | 0,22 | 0,13 | -0,48 | -0,42 | -0,39 |
| PDSGR | -0,15 | -0,51 | 0,09 | -0,27 | 0,24 | 0,17 | 0,11 | 0,31 |
| NBRGR | -4,16 | -5,61 | -0,43 | 1,66 | 5,99 | 3,98 | 2,97 | -4,39 |
| PMG | 0,29 | -2,71 | 1,61 | -6,27 | -0,69 | -1,77 | 1,19 | 8,45 |
| LONGE | 0,59 | 0,27 | $0,54 \cdot 10^{-3}$ | 0,06 | 0,07 | $0,41 \cdot 10^{-3}$ | -0,84 | -0,16 |
| HAUT | -1,56 | -3,30 | 2,83 | -3,06 | -1,53 | 0,88 | -0,58 | 6,30 |
| ENTRN | 0,14 | -0,09 | -0,06 | $7,91 \cdot 10^{-3}$ | -0,08 | -0,19 | -0,10 | 0,38 |
| EPIAI | 2,86 | 2,37 | -1,06 | -0,22 | -0,59 | -2,83 | -3,87 | 3,34 |
| OIDVERT | -20,00 | 3,35 | 2,27 | -5,23 | 3,66 | 6,53 | 5,67 | 3,70 |

Les effets réciproques généraux et spécifiques ne sont pas significatifs sauf pour la longueur de l'épi et le nombre d'entre-nœuds qui montrent respectivement un effet réciproque général très hautement significatif et hautement significatif (tableau 2.23).

L'examen de la variation des croisements avec un même parent permet d'identifier les parents avec une forte AGC (tableau 2.25) et une faible variance d'ASC qui transmettent uniformément leur potentiel à leurs descendants (annexe, tableaux 5 et 6). Ces parents sont Saïda pour la grande hauteur de la tige et le nombre élevé d'entre-nœuds, Jaidor pour la tardiveté à l'épiaison et la résistance à l'oïdium, Motan pour la grande longueur de l'épi, Ensenada pour la précocité à l'épiaison et le poids de 1000 grains élevé, Prato pour l'indice de récolte, le rendement en grain et le poids des grains du maître-brin élevés et CM 67 pour une courte hauteur de la tige. On peut penser qu'ils sont porteurs de gènes dominants favorables. Cependant, certaines variétés transmettent des caractéristiques indésirables à leurs descendants tels que le rendement en grain faible de Motan et le poids de 1000 grains faible de CM 67. En ce qui concerne le poids de 1000 grains, la variété Saïda possède une AGC élevée (poids de 1000 grains moyen élevé) mais sa variance d'ASC est élevée.

1.3.2 – *Corrélations entre les AGC des variétés pour différents caractères*

De fortes liaisons ont été trouvées entre les AGC des variétés pour les couples rendement en grain – poids des grains du maître-brin (0,73*), poids des grains du maître-brin – hauteur de la tige (0,73*), nombre de grains – indice de récolte (0,94***), nombre de grains – épiaison (-0,82*), poids de 1000 grains – hauteur de la tige (0,87**), rendement en paille – nombre d'entre-nœuds (0,77*), rendement en paille-épiaison (0,75*), indice de récolte – épiaison (-0,71*) et nombre d'entre-nœuds – épiaison (0,74*) (tableau 2.26).

Les corrélations entre les AGC pour les différents caractères sont connues avec peu de précision, compte tenu du faible nombre de parents. Cependant comme l'AGC est calculée à partir de la moyenne de plusieurs croisements (7), elle est connue avec plus de précision que la valeur d'un parent. Dans le cas d'une forte additivité et d'une erreur expérimentale assez importante, les corrélations entre AGC peuvent donc faire apparaître des corrélations qui ne seraient pas apparues au niveau des variétés. Dans le cas de corrélations plus faibles qu'au niveau F_1 , cela peut venir de l'existence d'effets d'ASC sur l'un ou l'autre ou les deux caractères mis en corrélation. La comparaison des matrices de corrélations entre les valeurs F_1 et celles entre les AGC montre en fait qu'elles sont très proches, hormis pour les corrélations avec le rendement en paille (tableaux 2.19 et 2.26). Cela pourrait signifier que ce caractère est plus affecté par l'ASC que les autres. Ainsi la corrélation rendement en paille – rendement en grain n'est pas significative au niveau des AGC. Cela pourrait aussi être dû au faible nombre de parents. Inversement, la corrélation rendement en paille – poids de 1000 grains est significative au niveau des AGC, comme au niveau des variétés, mais n'est pas significative au niveau des F_1 , ce qui ne peut s'expliquer que par un effet d'ASC sur le rendement en paille et un effet d'additivité plus fort pour le poids de 1000 grains. Le même commentaire peut être fait à partir de la liaison rendement en paille – précocité à l'épiaison.

1.3.3. – *Hétérosis parental*

L'hétérosis parental montre des différences significatives à très hautement significatives pour la majorité des caractères étudiés à l'exception du rendement en grain, de l'indice de récolte, du nombre d'épis par plante et du poids de 1000 grains (tableau 2.23). Il signifie donc des effets d'AGC qui ne s'expliquent pas par la valeur propre des parents, mais plutôt par leur valeur en combinaison.

Tableau 2.26 : Corrélations entre les AGC des parents pour différents caractères (ddl = 6)

| | RDTGR | NBRGR | PMG | IR | EPIS | HAUT | LONG | ENTRN | EPIAI | PDSGR | OIDVERT |
|-------|-------|-------|--------|---------|-------|--------|-------|-------|--------|-------|---------|
| RDTPA | 0,21 | -0,54 | 0,69 | -0,450 | 0,11 | 0,62 | 0,48 | 0,78* | 0,75* | 0,31 | -0,32 |
| RDTGR | | 0,55 | 0,189 | 0,64 | 0,18 | 0,18 | -0,00 | 0,13 | -0,10 | 0,73* | 0,06 |
| NBRGR | | | -0,325 | 0,94*** | -0,03 | -0,16 | -0,43 | -0,59 | -0,82 | 0,47 | 0,37 |
| PMG | | | | -0,19 | -0,13 | 0,87** | -0,27 | 0,67 | 0,29 | 0,63 | 0,16 |
| IR | | | | | -0,18 | -0,10 | -0,50 | -0,34 | -0,71* | 0,54 | 0,25 |
| EPIS | | | | | | -0,02 | 0,35 | -0,12 | 0,10 | -0,23 | -0,70 |
| HAUT | | | | | | | -0,28 | 0,55 | 0,12 | 0,73* | 0,35 |
| LONGE | | | | | | | | 0,15 | 0,66 | -0,46 | -0,64 |
| ENTRN | | | | | | | | | 0,74* | 0,21 | -0,36 |
| EPIAI | | | | | | | | | | -0,32 | -0,48 |
| PDSGR | | | | | | | | | | | 0,36 |

Tableau 2.27 : Corrélations entre : F_1 -parent moyen, F_1 -AGC, F_1 - ASC, AGC - valeur propre de la variété (v_i), hétérosis parental (h_i) - AGC, $v_i - h_i$, distance de Hanson et Casas (R^2_{ij}) - h_{ij} , distance de Hanson et Casas - F_1 et distance de Hanson et Casas - ASC

| Traits | $F_1 - \bar{P}$ (ddl = 26) | $F_1 - AGC$ (ddl = 26) | $F_1 - ASC$ (ddl = 26) | AGC - v_i (ddl = 6) | $h_i - AGC$ (ddl = 6) | $v_i - h_i$ (ddl = 6) | $R^2_{ij} - h_{ij}$ (ddl = 26) | $R^2_{ij} - F_1$ (ddl = 26) | $R^2_{ij} - ASC$ (ddl = 26) |
|---------|-------------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| RDTGR | 0,58*** | 0,68*** | 0,78*** | 0,86** | 0,49 ns | -0,02 ns | -0,41 ns | -0,26 ns | -0,53*** |
| RDTPA | 0,33 ns | 0,57** | 0,81*** | 0,58 ns | -0,82* | -0,01 ns | -0,36 ns | -0,24 ns | -0,34 ns |
| IR | 0,33 ns | 0,76*** | 0,64*** | 0,37 ns | 0,58 ns | -0,39 ns | -0,25 ns | -0,29 ns | 0,37 ns |
| EPIS | 0,13 ns | 0,29 ns | 0,69*** | 0,21 ns | 0,32 ns | -0,85* | -0,02 ns | -0,22 ns | 0,10 ns |
| PDSGR | 0,55*** | 0,85*** | 0,46* | 0,74* | 0,43 ns | -0,23 ns | 0,25 ns | 0,19 ns | 0,21 ns |
| NBRGR | 0,59** | 0,82*** | 0,44* | 0,72* | 0,63 ns | -0,08 ns | 0,01 ns | 0,07 ns | -0,08 ns |
| PMG | 0,82*** | 0,89*** | 0,44* | 0,96*** | 0,27 ns | -0,01 ns | 0,04 ns | 0,20 ns | -0,10 ns |
| HAUT | 0,61*** | 0,75*** | 0,66*** | 0,64 ns | -0,06 ns | -0,61 ns | -0,15 ns | 0,16 ns | -0,37 ns |
| LONGE | 0,56** | 0,79*** | 0,52** | 0,42 ns | 0,19 ns | -0,51 ns | -0,50** | -0,34 ns | 0,43* |
| ENTRN | 0,74*** | 0,87*** | 0,49* | 0,85** | -0,15 ns | -0,51 ns | 0,15 ns | 0,61** | 0,49* |
| EPIAI | 0,82*** | 0,91*** | 0,39* | 0,95*** | 0,07 ns | -0,26 ns | 0,05 ns | 0,22 ns | 0,36 ns |
| OIDVERT | 0,64*** | 0,96*** | 0,26 ns | 0,71* | 0,79* | 0,17 ns | 0,09 ns | -0,32 ns | -0,27 ns |

1.3.4. – Détermination de la valeur de la F_1

1.3.4.1. – Corrélation F_1 - parent moyen (figures 2.3 et 2.4)

La majorité des corrélations F_1 -parent moyen au niveau des différents caractères sont positives et significatives à très hautement significatives à l'exception du rendement en paille, de l'indice de récolte et du nombre d'épis par plante (tableau 2.27). Cependant, sauf pour le poids de 1000 grains, le nombre d'entre-nœuds et l'épiaison, les corrélations sont inférieures à 0,70 ; le parent moyen explique donc moins de 50 % de la variation. Sur la base de cette corrélation, le poids de mille grains, le nombre d'entre-nœuds et l'épiaison seraient donc les caractères les plus additifs et le rendement en paille, l'indice de récolte et le nombre d'épis, les moins additifs.

1.3.4.2. – Corrélation F_1 - AGC des parents

Pour l'ensemble des caractères, la valeur moyenne de la F_1 est corrélée de façon positive et très hautement significative avec la valeur moyenne des AGC des parents (tableau 2.27). Les coefficients de corrélation varient de 0,57** pour le rendement en paille à 0,96*** pour la progression verticale de l'oïdium. Pour le rendement en paille, le fait que la corrélation avec l'A.G.C. est bien plus significative qu'avec le parent moyen tend à montrer que la valeur propre est insuffisante et qu'il doit y avoir des effets généraux dus à la dominance et à l'épistasie. Cela pourrait toutefois aussi traduire le fait que l'AGC est connue avec plus de précision que la valeur propre.

1.3.4.3. – Corrélation F_1 – ASC

Cette corrélation permet de séparer les plus faibles corrélations F_1 - parent moyen, celles qui sont dues à une imprécision dans les mesures de celles qui sont dues à l'ASC. Ainsi, cette corrélation est la plus forte pour le rendement en grain et le rendement en paille, caractères qui montrent beaucoup d'ASC. Elle est aussi assez forte pour l'indice de récolte et la hauteur. Pour ces caractères on peut donc conclure à une forte influence de l'ASC sur la valeur F_1 . Par contre elle est très faible pour le poids des grains du maître-brin, le nombre de grains, le poids de 1000 grains, la précocité à l'épiaison et l'oïdium. Ces caractères peuvent donc être considérés comme très additifs (alors que cela n'était pas clair pour la résistance à l'oïdium). Pour le poids des grains du maître-brin, le nombre de grains et la résistance à l'oïdium, la corrélation avec l'AGC est suffisamment forte (r respectivement de 0,85***, 0,82*** et 0,96***) pour expliquer les plus faibles corrélations avec l'ASC. Pour ces caractères, la faible corrélation moyenne F_1 - parent moyen traduisent donc une imprécision dans l'évaluation (tableau 2.27).

Il faut enfin noter que les ASC les plus fortes sont souvent associées aux croisements pour lesquels l'un des deux parents au moins a une faible performance (AGC ou valeur propre).

1.3.4.4. - Corrélation AGC – valeur propre, AGC – hétérosis parental

La corrélation entre l'AGC et la valeur propre (v_i) est positive et assez élevée pour l'ensemble des caractères et significative à très hautement significative pour le rendement en grain, le poids des grains du maître-brin, le nombre de grains, le poids de 1000 grains, le nombre d'entre-nœuds, la précocité à l'épiaison et la progression verticale de l'oïdium (tableau 2.27). Par contre, elle n'est pas significative pour le rendement en paille, l'indice de récolte, la hauteur des plantes et la longueur de l'épi, ce qui tend à confirmer un rôle assez fort des déviations à l'additivité pour ces caractères. Pour tous les caractères à l'exception du nombre d'entre-noeuds et de la progression verticale de l'oïdium, la corrélation h_i-v_i est négative mais seule la corrélation au niveau du nombre d'épis est significative. Il y aurait

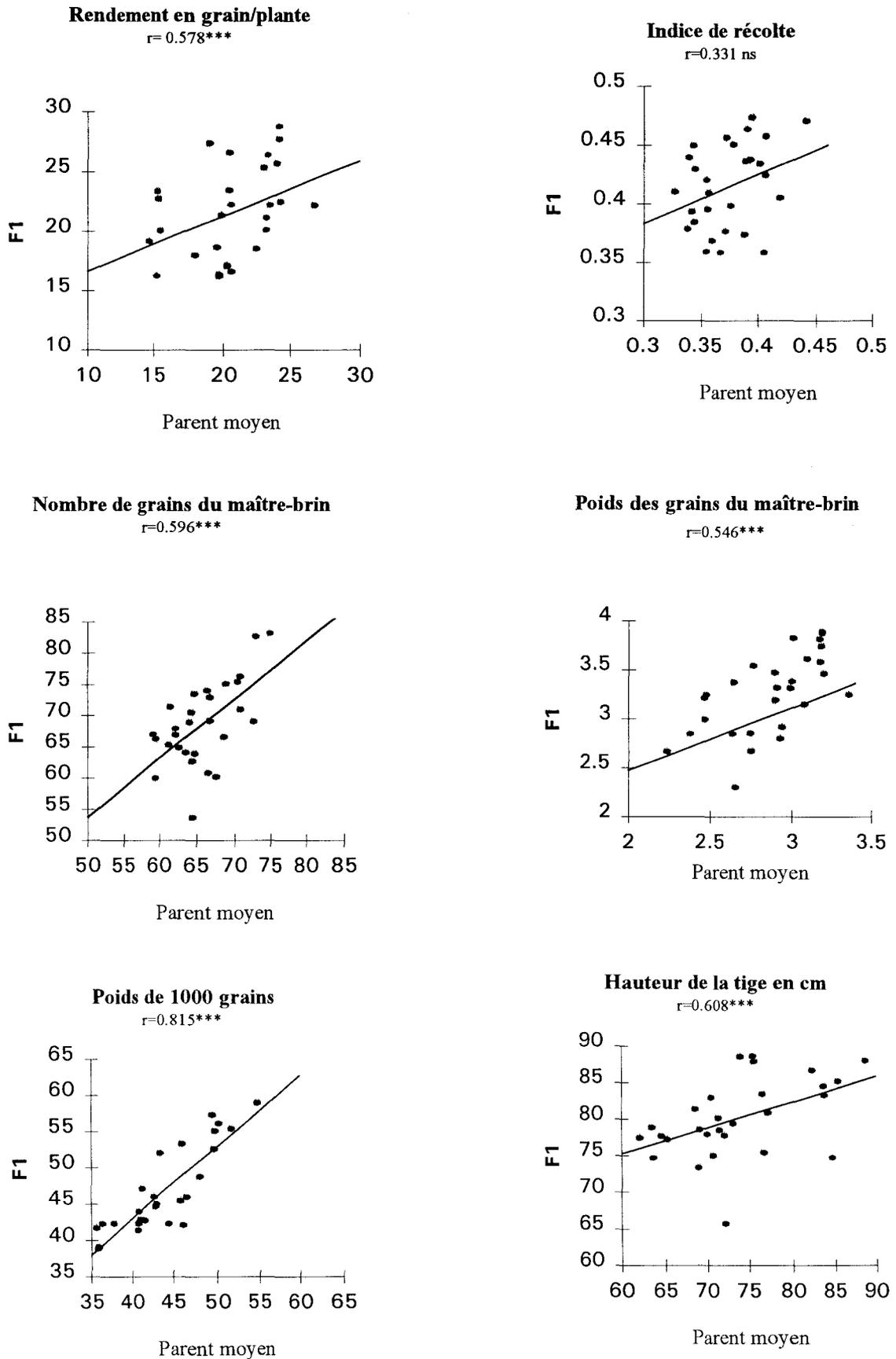


Figure 2.3 : Valeur moyenne des F₁ en fonction du parent moyen (mP)

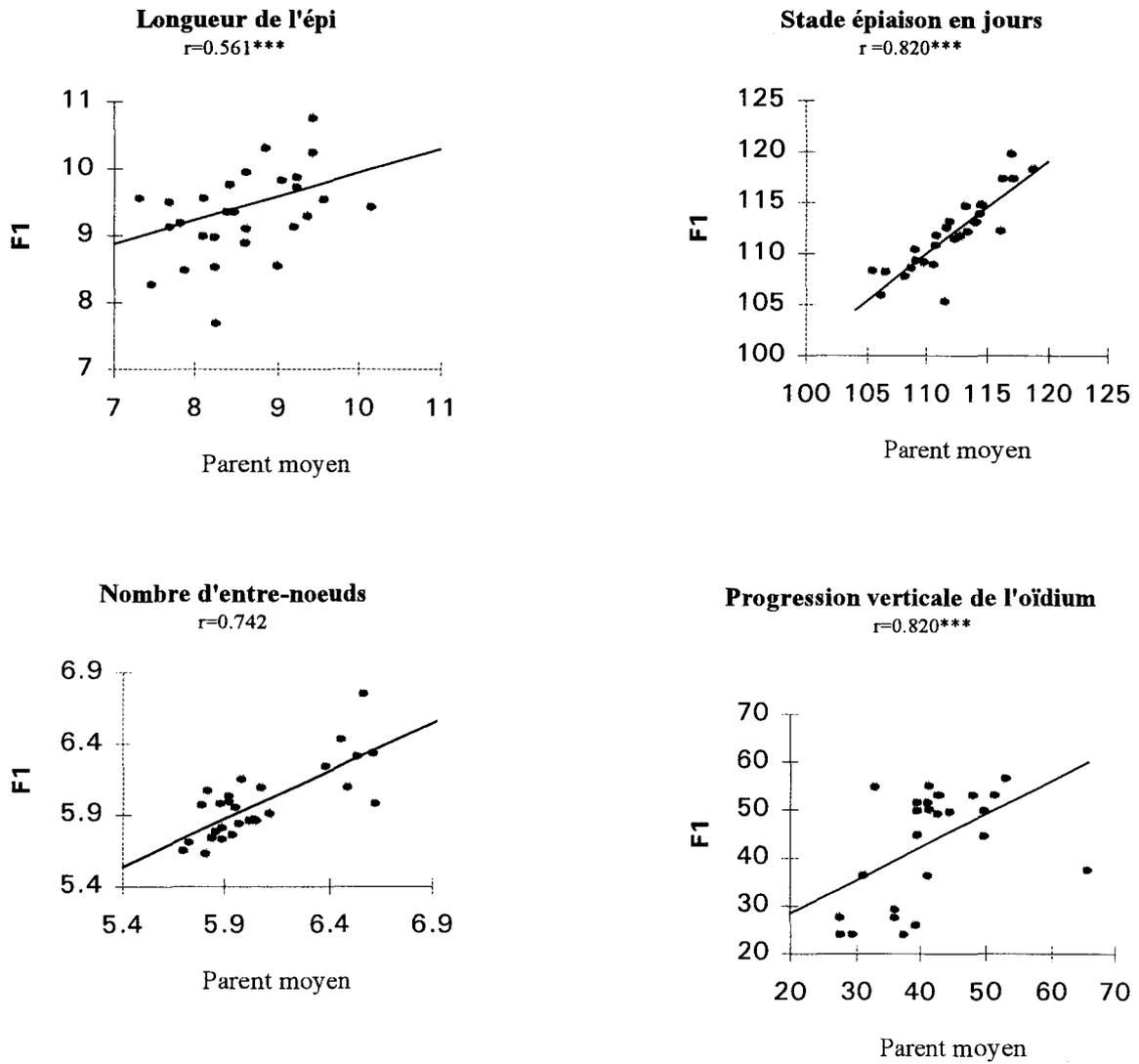


Figure 2.4 : Valeur moyenne des F_1 en fonction du parent moyen

Tableau 2.28 : Analyse de Hayman. Equations de régression des droites W_r , V_r et (W_r+V_r) , Y_r et coefficients de corrélation

| caractères | $W_r=A+B V_r$ | r | $(W_r+V_r)=A+B Y_r$ | r |
|------------|----------------------------|----------|---------------------------------|-----------|
| RDTGR | $W_r = 0,523 V_r - 0,175$ | 0,807* | $W_r+V_r = -1,0562*Y_r - 5,876$ | -0,515 ns |
| RDTPA | $W_r = 0,122 V_r - 9,641$ | 0,067 ns | $W_r+V_r = 1,327*Y_r - 63,224$ | 0,711 ns |
| IR | $0,6654 V_r - 2,8.10^{-4}$ | 0,778* | $-3,16.10^{-3} Y_r + 0,0031$ | -0,160 ns |
| EPIS | $W_r = 5,411 V_r - 3,781$ | -0,841* | $W_r+V_r = -0,376 Y_r - 3,934$ | -0,230 ns |
| OIDVERT | $0,6552 V_r + 11,6259$ | 0,614 ns | $-0,2622 Y_r + 169,8403$ | -0,039 ns |
| PDSGR | $-0,0512 + 1,0500 V_r$ | 0,922** | $-0,1141 Y_r + 0,5710$ | -0,558 ns |
| NBRGR | $0,4984 V_r + 5,0098$ | 0,702 ns | $2,5860 Y_r + 21,9175$ | 0,761* |
| PMG | $0,8227 V_r + 12,4643$ | 0,916** | $0,7688 Y_r + 25,3181$ | 0,586 ns |
| LONGE | $0,87702 V_r - 0,06041$ | 0,910** | $-0,41782 Y_r + 4,4123$ | -0,777* |
| HAUT | $1,1435 V_r - 8,0961$ | 0,874** | $-0,0039 Y_r + 72,4734$ | -0,001 ns |
| ENTRN | $0,80723 V_r + 0,03486$ | 0,858** | $0,09189 Y_r - 0,42236$ | 0,201 ns |
| EPIAI | $0,5046 V_r + 9,4080$ | 0,449 ns | $0,7878 Y_r - 64,9003$ | 0,812* |

donc une certaine indépendance entre la valeur propre et l'hétérosis parental. Elle signifierait que l'hétérosis ne s'explique pas que par la dominance complète. Cela peut aussi venir plus probablement de l'imprécision dans l'évaluation des caractères. D'ailleurs, pour la majorité des caractères la corrélation AGC – hi est non significative à l'exception des caractères rendement en paille (-0,82*) et progression verticale de l'oïdium (0,79*). Cela tend donc à montrer que l'AGC est avant tout déterminée par la valeur propre avec un rôle assez fort de l'additivité et de la dominance partielle à complète.

1.3.4.5. – Corrélation entre F_1 , hétérosis par rapport au parent moyen ou ASC et distance de Hanson et Casas

Les corrélations entre d'une part la distance de Hanson et Casas (R^2_{ij}) (annexe, tableaux 10 à 16) et d'autre part l'hétérosis par rapport au parent moyen (h_{ij}), la valeur F_1 et l'ASC sont non significatives pour la majorité des caractères, à l'exception du nombre d'entre-nœuds ($r[R^2_{ij} - F_1] = 0,61^{**}$ et $r[R^2_{ij} - ASC] = 0,49^*$) et de la longueur de l'épi ($r[R^2_{ij} - h_{ij}] = -0,50^{**}$ et $r[R^2_{ij} - ASC] = 0,43^*$) et du rendement en grain ($r[R^2_{ij} - ASC] = -0,53^{***}$) (tableau 2.27). Pour le caractère longueur de l'épi, la corrélation est négative entre la distance de Hanson et Casas et l'hétérosis par rapport au parent moyen, pour le rendement en grain, la corrélation entre cette distance et l'ASC est aussi négative. Si la dominance est positive on s'attend à une corrélation positive. Il pourrait y avoir un effet défavorable de la distance génétique. Ces corrélations sont toutefois assez faibles. Nos résultats corroborent ceux de Marchais (1978) qui ne trouve pas de liaison entre cette distance et la valeur moyenne de la F_1 pour la majorité des caractères étudiés. Cependant, une forte liaison entre l'hétérosis spécifique (ASC) et la distance de Hanson et Casas a été mise en évidence par cet auteur pour la majorité des caractères.

1.4 – *Hérédité des caractères selon l'analyse de Hayman*

1.4.1. - *Validité de l'analyse selon les caractères*

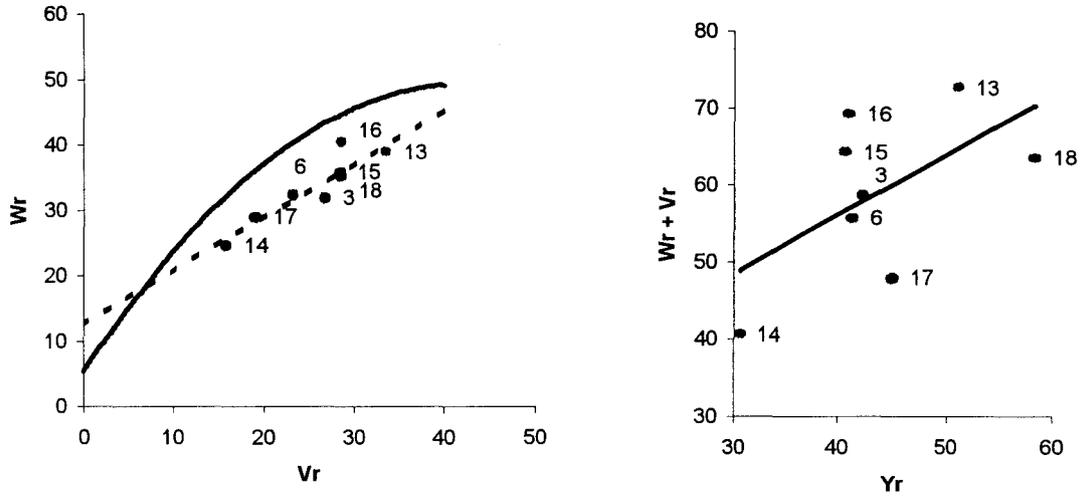
L'analyse de Hayman repose sur une série d'hypothèses rappelées dans la partie bibliographique. Avant de voir l'interprétation génétique, il faut vérifier la validité de ces hypothèses. Le critère est la pente de la droite W_r/V_r qui doit être non significativement différente de 1. Ce n'est clairement pas le cas pour le rendement en grain, le rendement en paille, le poids des grains du maître-brin, le nombre de grains et le critère de précocité. Cette déviation peut traduire une non indépendance des locus impliqués et (ou) de l'épistasie ou des effets de compétition. De plus, la liaison n'est pas significative pour la résistance à l'oïdium, le rendement en paille, le nombre de grains et l'épiaison (tableau 2.28). Par contre le modèle semble acceptable pour le poids de 1000 grains, la longueur de l'épi, le nombre d'entre-nœuds et la hauteur de la tige.

1.4.2. – *Analyse des effets*

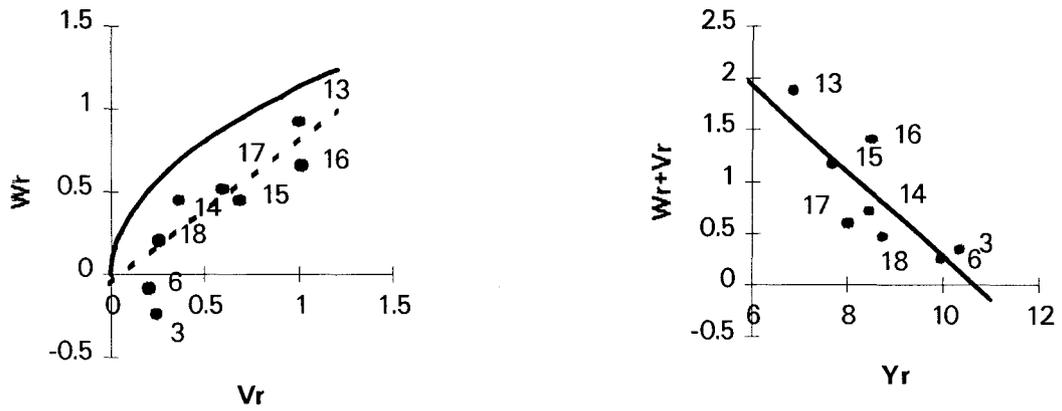
- La longueur de l'épi et la hauteur de la tige montrent des effets apparents de superdominance. Le graphique montre en fait une situation proche de la dominance complète, ce qui confirme la non-additivité de ces caractères détectée par les deux analyses précédentes (figures 2.5 et 2.6).
- Le poids de 1000 grains et le nombre d'entre-nœuds montrent des effets de dominance partielle, ce qui tend à confirmer la forte additivité de ces caractères.

1.4.3. – *Sens de la dominance*

La dominance apparaît favorable pour la longueur de l'épi. Par contre, des gènes récessifs sont favorables pour le poids de 1000 grains et le nombre d'entre-nœuds (figures 2.5

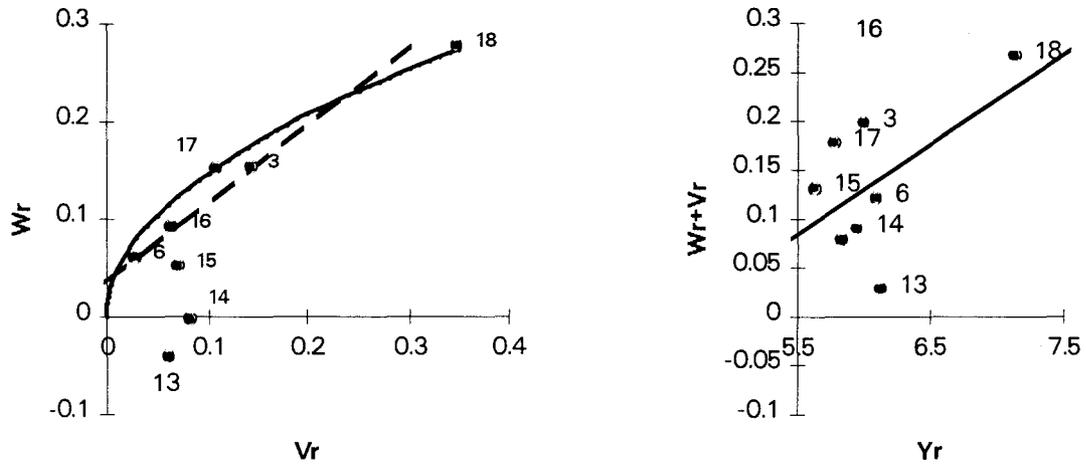


Poids de 1000 grains

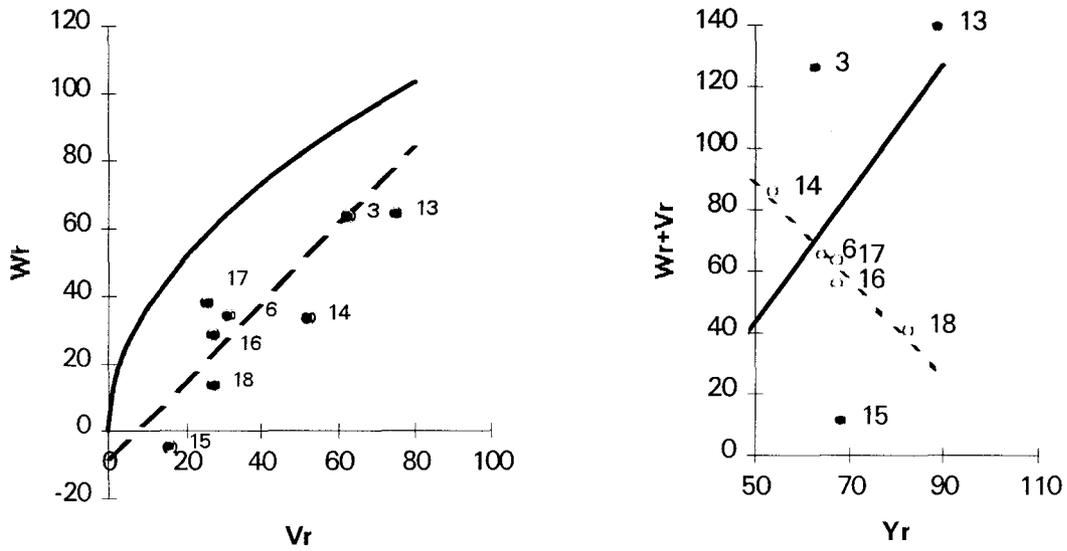


Longueur de l'épi

Figure 2.5 : Analyse graphique de Hayman pour le poids de 1000 grains et la longueur de l'épi.



Nombre d'entre-nœuds



Hauteur de la tige

Figure 2.6 : Analyse graphique de Hayman pour le nombre d'entre-nœuds et la hauteur de la tige

et 2.6). Pour la hauteur de la tige, le sens de la dominance dépend des parents. En effet, dans ce cas, nous avons des parents pour lesquels la grande hauteur de la tige dépend de gènes dominants (Motan, CM 67, Apizaco, Ensenada et Saïda) et des variétés pour lesquelles la grande hauteur de la tige dépend de gènes récessifs (Jaidor, Beecher et Prato).

1.4.4. – *Répartition des gènes chez les parents*

Pour le poids de 1000 grains, la variété Saïda possède à la fois des gènes dominants et récessifs favorables, tandis que la variété Beecher renferme des gènes récessifs favorables au caractère. La variété CM 67 est caractérisée par le plus faible poids de 1000 grains et contient des gènes dominants. Pour la longueur de l'épi, les variétés Jaidor et Motan contiennent des gènes dominants favorables à l'accroissement de ce caractère. Pour le nombre d'entre-nœuds, Saïda contient un grand nombre de gènes récessifs favorables. Pour la hauteur de la tige, Beecher et Saïda ont la plus grande valeur moyenne de la hauteur de la tige. Beecher renferme des gènes récessifs et Saïda des gènes dominants favorables à l'accroissement du caractère.

1.4.5. – *Possibilités de transgression*

Pour les caractères où le modèle semble valable, à l'exception du nombre d'entre-nœuds, il existerait des possibilités de transgression dans les descendance des croisements effectués entre parents inclus dans cet essai. Des croisements entre des parents rapprochés situés dans la partie médiane de la droite peuvent éventuellement être complémentaires et donner des formes transgressives, mais ce n'est qu'après l'analyse des F₂ que l'on peut les mettre en évidence. Ceci est le cas des variétés Motan, Jaidor et Saïda pour le poids de 1000 grains, CM 67, Prato et Ensenada pour la longueur de l'épi et CM 67, Motan, Apizaco et Ensenada pour la hauteur de la tige.

1.5. – *Discussion*

Pour le rendement en grain, l'avantage moyen des F₁ est faible à nul. Un seul hybride (Jaidor x Prato) dépasse très légèrement (3,2 %) la meilleure variété de l'essai (Prato). Cet avantage n'est sûrement pas suffisant pour opter pour l'utilisation de semences hybrides puisqu'un avantage moyen de 11 % à 13 % est nécessaire pour compenser le surcoût de la production de semences hybrides (Rousset, 1986, et Brears et *al.*, 1988, cités par Oury *et al.*, 1990 a). Il apparaît cependant, une grande variation de l'hétérosis.

Que ce soit pour le rendement en grain, le poids de 1000 grains ou l'indice de récolte, les hybrides issus de croisements entre lignées éloignées géographiquement dépassent leur parent moyen et leur meilleur parent respectivement de 11,9 % à 25,6 % et de 10,2 à 19,7 % pour le rendement en grain, de 13,6 % à 19,48 % et de 11,74 % à 15,59 % pour le poids de 1000 grains, de 17,2 à 30,86 % et de 16,67 % à 25,43 % pour l'indice de récolte. Cependant, l'un des parents est souvent mauvais. Johnson et Whittington (1978) ont souligné que la divergence entre parents (variétés européennes x variétés américaines) augmente le niveau d'hétérosis. Foster et Fothergill (1981) rapportent des valeurs d'hétérosis par rapport au meilleur parent pour le rendement en grain de l'orge en condition de sécheresse et de culture intensive de 20 à 40 %.

Dans l'ensemble, l'hétérosis exprimé pour le rendement du maître-brin est plus élevé que celui exprimé pour tout caractère végétatif ou toute composante de ce rendement. Nos résultats sont en accord avec ceux de Lefort-Buson (1986) sur colza et ceux de Bhadouria et *al.* (1976), Singh et Behl (1991) et Jatasra et *al.* (1980) sur blé tendre. Cette supériorité au niveau de l'hétérosis du rendement viendrait du cumul des effets d'hétérosis observés pour les

Tableau 2.29 : Comparaison F_1 - F_2 et \bar{P} pour tous les caractères des deux essais (1988 and 1991)

| caractères | années | génotypes | F_1 | \bar{P} | $F_1 - F_2$ | $(F_1 - \bar{P})/2$ | $F_1 - \bar{P}$ | $F_2 - \bar{P}$ | C |
|------------|--------|-----------|-------|-----------|-------------|---------------------|-----------------|-----------------|-----|
| RDTGR | 1988 | Pra x CM | 10,2 | 5,2 | 4,4 | 2,4 | 4,97*** | 0,62 ns | ** |
| | 1988 | Api x Pra | 6,2 | 6,3 | 0,4 | -0,05 | -0,10 ns | -0,50 ns | ns |
| | 1991 | Mot x CM | 10,0 | 9,5 | 2,9 | 0,2 | 0,50 ns | -1,50 ns | *** |
| RDTPA | 1988 | Pra x CM | 12,0 | 8,5 | 3,4 | 1,7 | 3,50** | 0,14 ns | ns |
| | 1988 | Api x Pra | 8,4 | 9,7 | -0,4 | -0,6 | -1,30 ns | -0,40 ns | ns |
| | 1991 | Mot x CM | 8,1 | 9,0 | 0,1 | -0,4 | -0,90 ns | -1,00 ns | ns |
| IR | 1988 | Pra x CM | 0,46 | 0,37 | 0,1 | 0,04 | 0,08*** | 0,03 ns | ns |
| | 1988 | Api x Pra | 0,43 | 0,40 | 0,0 | 0,01 | 0,03 ns | 0,04 ns | ns |
| | 1991 | Mot x CM | 0,49 | 0,51 | 0,0 | -0,01 | -0,02 ns | -0,06 ns | ns |
| PDSGR | 1988 | Pra x CM | 2,9 | 1,8 | 0,8 | 0,5 | 1,10 ns | 0,30 ns | ns |
| | 1988 | Api x Pra | 2,6 | 1,9 | 0,3 | 0,3 | 0,70 ns | 0,40 ns | ns |
| | 1991 | Mot x CM | 3,2 | 1,8 | 0,9 | 0,7 | 1,42 ns | 0,49 ns | ns |
| EPIS | 1988 | Pra x CM | 4,6 | 3,7 | 0,9 | 0,5 | 1,00 ns | 0,00 ns | ns |
| | 1988 | Api x Pra | 3,3 | 4,0 | -0,4 | -0,3 | -0,70 ns | -0,30 ns | ns |
| | 1991 | Mot x CM | 3,8 | 5,7 | -0,6 | -1,0 | -1,91 ns | -1,40 ns | ns |
| NBRGR | 1988 | Pra x CM | 67,8 | 50,9 | 13,7 | 8,4 | 16,86*** | 3,14 ns | * |
| | 1988 | Api x Pra | 63,2 | 51,2 | 7,3 | 6,0 | 11,91* | 4,75 ns | ns |
| | 1991 | Mot x CM | 62,1 | 44,4 | 2,9 | 8,8 | 17,74*** | 14,81*** | ns |
| PMG | 1988 | Pra x CM | 43,0 | 32,9 | 6,0 | 5,0 | 10,12*** | 4,07 ns | ns |
| | 1988 | Api x Pra | 39,5 | 36,9 | 0,0 | 1,3 | 2,60 ns | 2,6 ns | ns |
| | 1991 | Mot x CM | 51,2 | 39,4 | 14,0 | 5,8 | 11,78*** | -2,23 ns | *** |
| HAUT | 1988 | Pra x CM | 77,6 | 68,8 | 0,1 | 4,4 | 8,84*** | 8,73 ns | ns |
| | 1988 | Api x Pra | 76,7 | 72,9 | -2,6 | 1,9 | 3,80 ns | 1,20 ns | ns |
| | 1991 | Mot x CM | 91,7 | 86,7 | 12,4 | 2,5 | 4,98 ns | -7,39*** | *** |
| LONGE | 1988 | Pra x CM | 8,3 | 6,7 | 1,4 | 0,8 | 1,57*** | 0,19 ns | ** |
| | 1988 | Api x Pra | 7,4 | 6,8 | 0,6 | 0,3 | 0,56* | -0,04 ns | ns |
| | 1991 | Mot x CM | 7,4 | 6,1 | -0,0 | 0,6 | 1,30 ns | 1,35 ns | ns |
| ENTRN | 1988 | Pra x CM | 6,7 | 6,4 | 0,2 | 0,1 | 0,30 ns | 0,10 ns | ns |
| | 1988 | Api x Pra | 6,3 | 6,5 | 0,2 | -0,1 | -0,20 ns | 0,20 ns | ns |
| | 1991 | Mot x CM | 5,7 | 6,0 | 0,1 | -0,1 | -0,31 ns | -0,40 ns | ns |

Seuil de signification du test de Student :: *P = 0.05 ; **P = 0.01 ; *** P = 0.001

\bar{P} = parent moyen

$$C = 2\bar{F}_2 - \bar{F}_1 - \bar{P}$$

différents caractères simples associés au rendement tels que le nombre de grains et le poids de 1000 grains. Le fait que cela ne se retrouve pas au niveau de la plante entière peut s'expliquer par les conditions stressantes qui défavorisent les autres talles reproductives. Ainsi, comme l'ont déjà montré Bhadouria *et al.* (1976), Jatasra *et al.* (1980), Lefort-Buson (1986) et Singh et Behl (1991), l'hétérosis sur le rendement en grain aurait sans doute été plus net en conditions plus favorables.

En ce qui concerne les effets génétiques en cause, les différentes analyses réalisées font apparaître :

- des caractères très additifs comme le poids de mille grains, le nombre d'entre-nœuds, la précocité à l'épiaison et la résistance à l'oïdium,
- des caractères moyennement additifs comme le nombre de grains, le poids des grains du maître-brin, la longueur de l'épi, voire le rendement en grain,
- des caractères peu additifs comme le rendement en paille, l'indice de récolte et la hauteur des plantes.

Pour le rendement en grain, les résultats de la détermination de la valeur des F_1 montrent qu'à partir de la valeur moyenne des parents, nous ne pouvons prévoir avec certitude les valeurs de la F_1 . Cependant, une première sélection sur la valeur propre est possible. De plus, ses composantes apparaissant plus additives, il serait donc plus efficace de sélectionner sur elles.

Différentes observations laissent penser que l'hétérosis important, observé pour le rendement pour certains croisements, est fixable pour les raisons suivantes :

- l'importance de l'additivité pour les composantes du rendement qui n'exclut pas des phénomènes de dominance partielle à complète ;
- le fait que l'ASC soit associée à des croisements faisant intervenir un parent faible ou deux parents faibles : cela peut s'expliquer par des phénomènes de dominance et l'hétérosis spécifique observé serait donc fixable ;
- la corrélation entre l'hétérosis parental et la valeur propre à tendance négative (mais non significative, peut-être à cause du faible nombre de degrés de liberté) pour la longueur de l'épi (une liaison négative signifierait en effet que l'augmentation de la valeur propre diminuerait l'hétérosis parental par suite de la fixation à l'état homozygote des gènes dominants favorables) ;
- le fait que le meilleur hybride (Jaidor x Prato) ne dépasse que de 3,2 % le meilleur parent de l'essai.

2- COMPARAISON F_1 – F_2 – PARENTS

Deux essais ont été utilisés pour la comparaison des moyennes F_1 , F_2 et parents. Le premier essai a été réalisé en 1988/1989 et comprend les croisements Prato x CM 67, Apizaco x Prato. Le deuxième essai a été réalisé en 1990/1991 et comprend le croisement Motan x CM 67.

2.1. - Comparaison des moyennes F_1 , F_2 et parents (figure 2.7)

L'analyse de la variance montre des différences significatives entre les générations pour la majorité des caractères des 2 essais (1987/1988 et 1990/1991) à l'exception des caractères rendement en paille, nombre d'épis par plante et nombre d'entre-nœuds de l'essai 1987/1988 (tableau 2.14 p. 65). Pour tous les caractères le croisement Prato x CM67 F_1 (essai 1987/1988) présente la meilleure valeur moyenne. Dans l'essai de 1990/1991, la F_1 (Motan x CM 67) est classée première pour les caractères rendement en grain, poids des grains du maître-brin, nombre de grains et poids de 1000 grains.

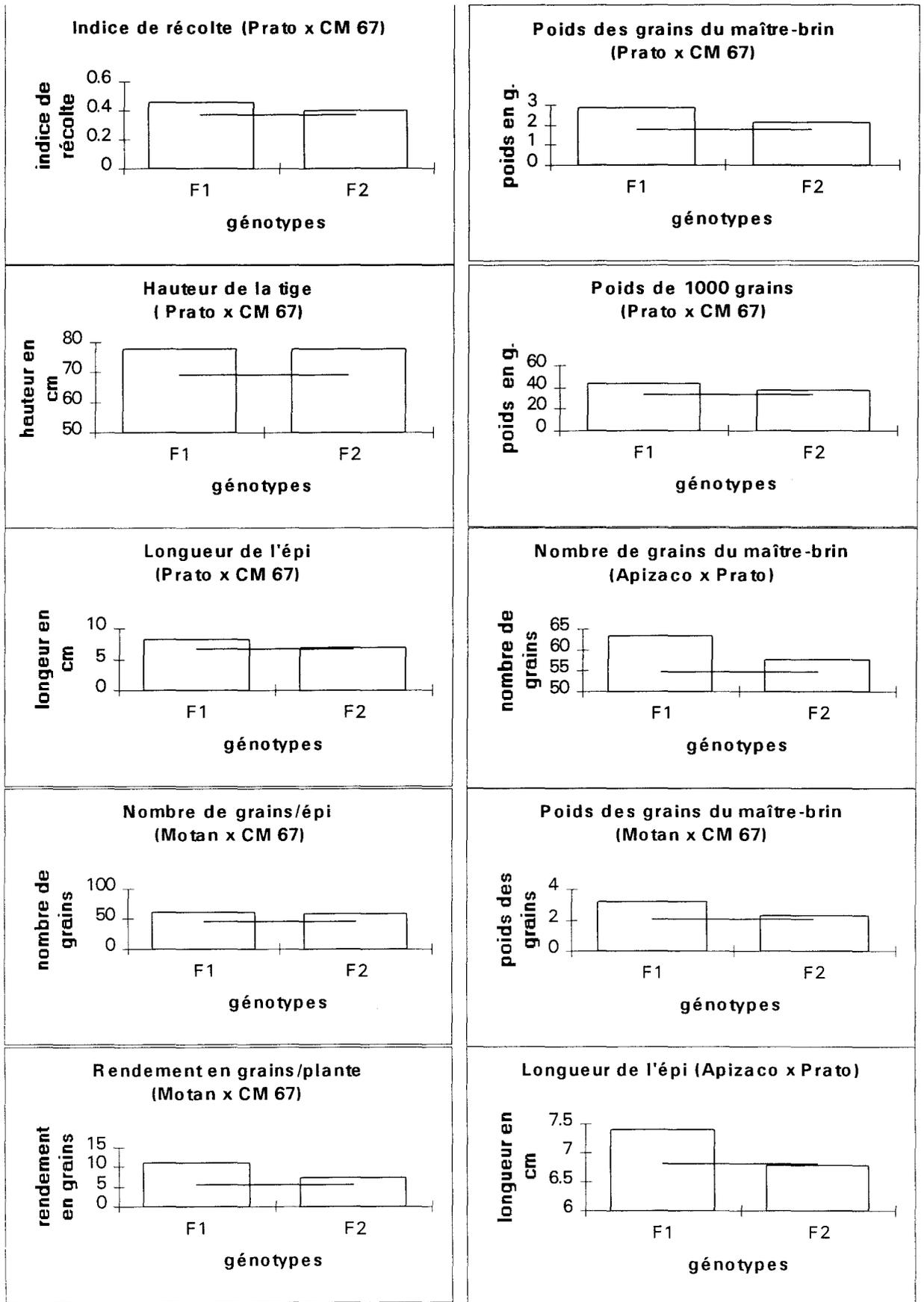


Figure 2.7 : Comparaison des moyennes des F₁, F₂ et Parent moyen (—)

La comparaison de la F_1 et du parent moyen correspondant montre un hétérosis (H) significatif au niveau des croisements et caractères suivants :

- Prato x CM 67 pour le rendement en grain ($H = 49 \% \pm 42 \%$ par rapport au meilleur parent), le rendement en paille ($H = 41,1 \%$), l'indice de récolte ($H = 24,2 \%$), le nombre de grains par épi ($H = 32,4 \%$), le poids de 1000 grains ($H = 30,7 \%$), la longueur de l'épi ($H = 23,2 \%$) et la hauteur de la tige ($H = 12,8 \%$),

- Motan x CM 67 : nombre de grains ($H = 27,8\%$) et poids de 1000 grains (29,8 %),

- Apizaco x Prato : nombre de grains ($H = 23,4\%$) et longueur de l'épi ($H = 21,5 \%$).

Le croisement Prato x CM 67 a aussi montré un hétérosis positif pour le rendement en grain en 1986. La comparaison $F_1 - F_2$ montre pour les deux croisements hétérotiques (Prato x CM 67 et Motan x CM 67) une réduction de rendement en F_2 plus forte qu'attendue. Ce phénomène se retrouve au niveau du rendement en paille pour le seul croisement significativement hétérotique (Prato x CM 67). Pour le nombre de grains par épi et la longueur de l'épi, parmi les deux croisements hétérotiques, on observe encore pour l'un d'eux (Prato x CM 67) une réduction plus forte qu'attendue. Ce phénomène s'observe encore pour la hauteur de la tige pour Motan x CM 67 ; pour Prato x CM 67 on a par contre une F_2 de valeur plus élevée qu'attendue.

En conclusion, dans la plupart des cas, la F_2 diminue comme attendu, ou plus qu'attendu, mais très rarement moins qu'attendu.

2.2. - Test de non additivité de Mather

Le contraste $C = 2 \overline{F_2} - \overline{F_1} - \overline{P}$ compare en fait la dépression observée en F_2 à celle attendue. Son test montre qu'il est significatif pour le rendement en grain (Prato x CM 67 et Motan x CM 67), le nombre de grains (Prato x CM 67), le poids de 1000 grains (Motan x CM 67), la longueur de l'épi (Prato x CM 67), la hauteur de la tige (Motan x CM 67) et la longueur de l'épi (Prato x CM 67). Ce résultat indique qu'il y a déviation à l'additivité des effets des locus au niveau de ces caractères pour les croisements indiqués entre parenthèses. Pour les autres caractères et croisements où le test n'est pas significatif, tout se passe donc comme s'il y avait additivité des effets des différents locus impliqués. Ainsi, il peut y avoir additivité des effets des locus pour un croisement et pas pour un autre. C'est le cas du poids de 1000 grains, additif pour Prato x CM 67 et non additif pour Motan x CM 67. Pour le rendement en paille (Prato x CM 67), le nombre d'épis par plante (Motan x CM 67), le nombre de grains par épi (Apizaco x Prato et Motan x CM 67), le poids de 1000 grains (Prato x CM 67), la hauteur de la tige (Prato x CM 67) et la longueur de l'épi (Apizaco x Prato), l'hétérosis de la F_1 est égal à 2 fois l'hétérosis de la F_2 .

2.3.- Discussion et conclusion

Le test $C = 2 \overline{F_2} - \overline{F_1} - \overline{P}$ est un test de déviation à l'additivité des effets des locus intra-plante (épistasie) ou inter-plante (compétition) (Gallais et *al.* non publié). Le dispositif ne permet pas de séparer ces deux types d'effets. Compte tenu de la forte densité, il est évident que les effets de compétition ont dû être très forts. De ce point de vue, les trois croisements ont un comportement très différent. Le croisement Apizaco x Prato est très peu hétérotique sauf pour le nombre de grains par épi et la longueur de l'épi. Le test C n'est pas significatif pour ces deux caractères. Le croisement Motan x CM 67 n'est pas significativement hétérotique pour le rendement en grain, mais le test C est toutefois significatif pour ce caractère ; il est aussi significatif pour le poids de 1000 grains et la hauteur de la tige. Le croisement Prato x CM 67 significativement hétérotique pour le rendement en grain et montre un test C significatif pour le rendement en grain, le nombre de grains par épi et la longueur de l'épi. Il y aurait donc des déviations à l'additivité des effets des

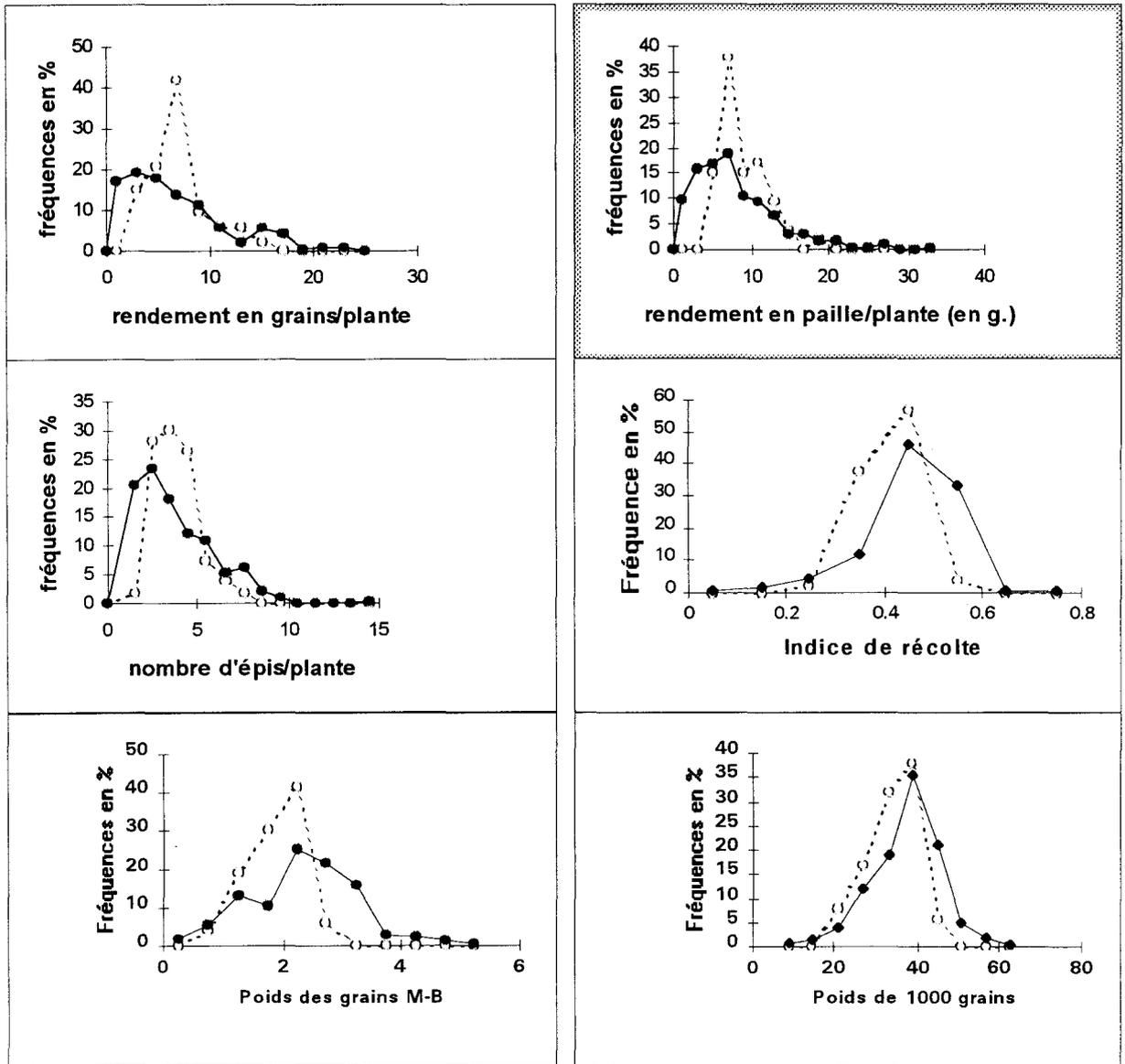


Figure 2.8 : Polygones des fréquences comparés des F₂ et des HD des caractères rendement en grains par plante, rendement en paille par plante, indice de récolte, nombre d'épis par plante, poids des grains du maître-brin et poids de 1000 grains.

----HD

— F₂

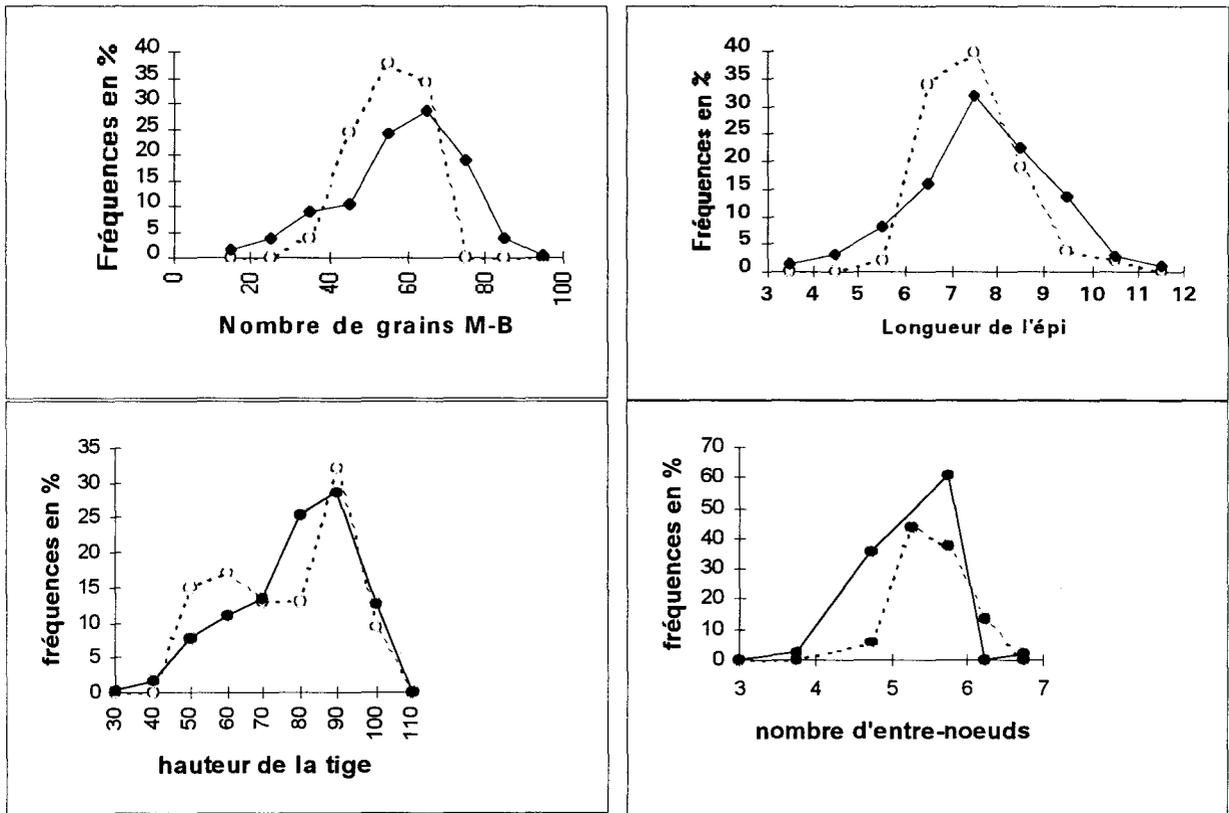


Figure 2.9 : Polygones des fréquences comparés des F₂ et des HD des caractères, nombre de grains, longueur de l'épi, hauteur de la tige et nombre d'entre-nœuds.

----HD

—F₂

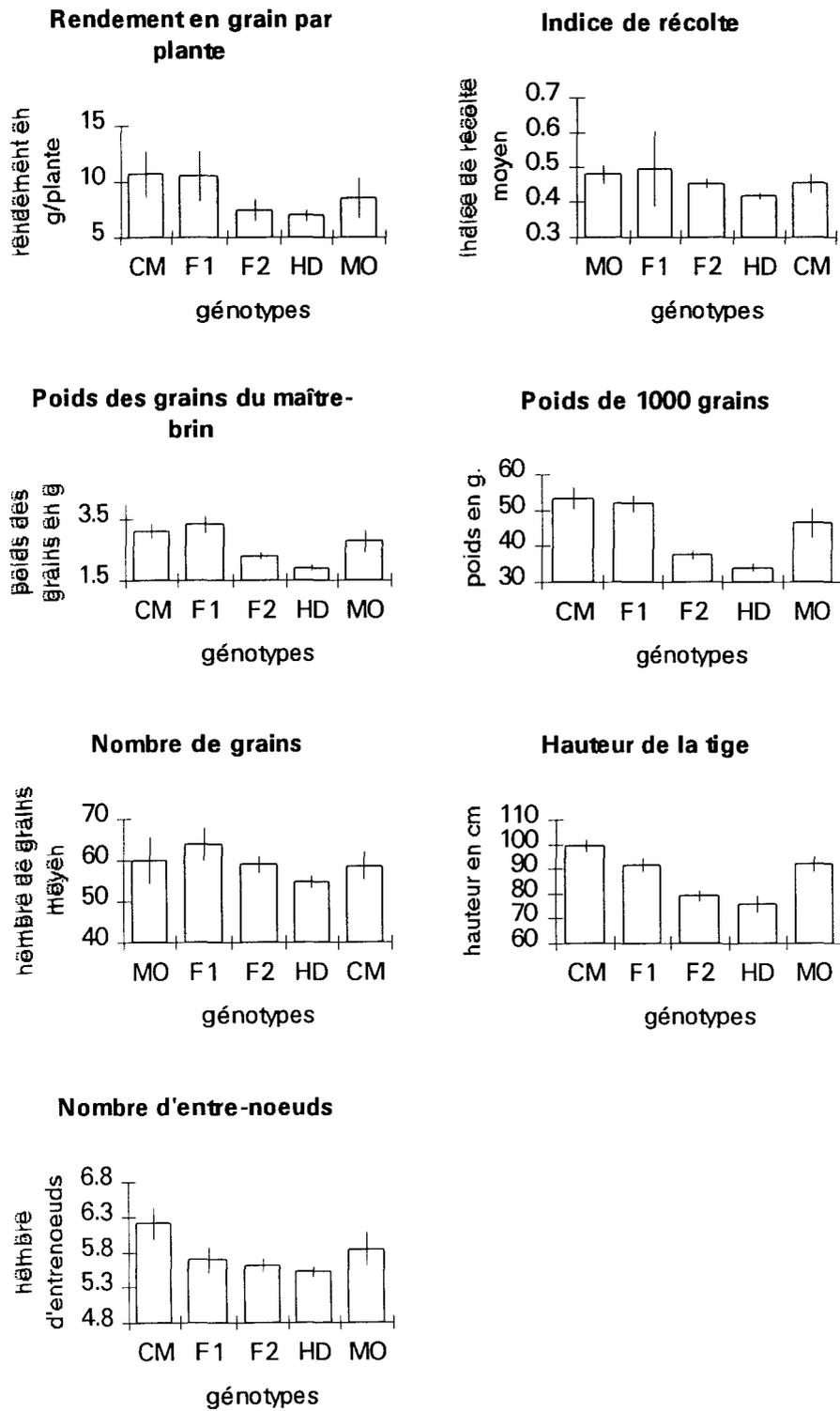


Figure 2.10 : Comparaison des moyennes des F₁, F₂, HD et parents
MO = parent Motan, CM = parent CM 67

loci pour le rendement et ses composantes, nombre de grains et poids de 1000 grains. Pour la hauteur de la tige, la signification du test C pour le croisement hétérotique Motan x CM 67 fait penser à des effets de compétition. Dans ce cas, il y a une différence entre la dépression attendue et la dépression observée. Cependant, la dépression est plus forte qu'attendue. Tout se passe comme si les individus les plus courts dominaient les plus hauts, peut-être par suite d'un tallage plus important. Cet effet possible du tallage tend à être confirmé au niveau du nombre d'épis par plante caractère pour lequel la F_1 a des valeurs inférieures aux parents et à la F_2 (dominance du faible nombre de tiges). Investissant plus dans le nombre de tiges, les plantes « dominantes » auraient un poids de 1000 grains plus faible qu'attendu ($r[\text{hauteur-poids de 1000 grains}] = 0,73^{***}$). D'où la signification du test C pour ce caractère. En fait, il apparaît que les plantes les plus précoces tendent à avoir un poids de 1000 grains plus élevé ($r[\text{épiaison - pmg}] = -0,50^{***}$) et un poids de grains du maître-brin plus important ($r[\text{épiaison - poids des grains}] = -0,62^{***}$), ce qui pourrait être dû à un effet de stress hydrique en fin de cycle. La diminution des plantes les plus faibles serait due au fait qu'au départ, les plantes tardives avaient un tallage végétatif plus élevé qui a défavorisé les plantes précoces plus productives. Cela se traduit donc aussi par un test C significatif pour le poids de 1000 grains. Donc, pour ce croisement, le comportement semble s'expliquer par des effets de compétition. L'épistasie n'est toutefois pas à exclure pour un caractère complexe comme le rendement en grain.

La séparation des effets de compétition et des effets d'épistasie aurait nécessité le même dispositif à deux densités différentes (faible et forte), ce qui était impossible avec la quantité de semences dont nous disposions. La seule culture à faible densité aurait été préférable d'un point de vue purement « génétique quantitative ». Nous avons choisi la forte densité pour se rapprocher des conditions normales de culture et voir dans ces conditions l'intérêt des F_2 . Il apparaît que dans nos conditions, avec deux croisements assez différents, la F_2 à densité de culture est toujours inférieure à la F_1 , et pourrait être plus inférieure qu'attendue en l'absence de compétition.

Au vu de ces résultats préliminaires, les F_2 n'apparaissent donc pas une solution pour utiliser l'hétérosis. Il faudrait toutefois refaire l'expérience avec des F_1 plus variées et dans différentes conditions de milieu.

3- MOYENNES ET VARIABILITE DES LIGNEES HD

La comparaison des lignées HD avec leurs parents a été réalisé en 1990/1991 au niveau du croisement Motan x CM.

3.1. – Comparaison des moyennes HD et des plantes F_2

Pour la majorité des caractères, la moyenne de la F_2 est égale à la moyenne des \overline{HD} (tableau 2.30) à l'exception des caractères poids des grains du maître-brin ($\overline{HD} < F_2$), hauteur de la tige ($\overline{HD} < F_2$) et épiaison ($\overline{HD} > F_2$). Pour l'ensemble des caractères, les modes des histogrammes HD et F_2 se situent au même niveau (même valeur moyenne) (figures 2.8 et 2.9).

La figure 2.10 montre que pour la plupart des caractères (hauteur de la tige, rendements en grain par plante, poids des grains du maître-brin, nombre d'entre-noeuds, indice de récolte, nombre de grains par épi et poids de 1000 grains) les valeurs moyennes de la F_2 se situent entre les valeurs moyennes de la F_1 et des HD, comme cela est attendu pour un caractère présentant de l'hétérosis.

Tableau 2.30 : Comparaison $\overline{HD} - \overline{P}$, $\overline{F_1} - \overline{HD}$ et $\overline{F_2} - \overline{HD}$ pour le croisement Motan x CM 67.

| caractères | \overline{HD} | $\overline{F_1}$ | $\overline{F_2}$ | Motan | CM 67 | $\overline{HD} - \overline{P}$ | $\overline{F_1} - \overline{HD}$ | $\overline{F_2} - \overline{HD}$ |
|------------|-----------------|------------------|------------------|--------|--------|--------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| RDTGR | 6,71 | 10,03 | 7,00 | 8,65 | 10,35 | -2,79** | 3,32*** | 1,29 ns |
| RDTPA | 8,76 | 8,11 | 8,00 | 8,34 | 9,74 | 0,28 ns | -0,65 ns | -0,76 ns |
| IR | 0,42 | 0,49 | 0,45 | 0,51 | 0,51 | -0,10 ns | 0,08 | 0,04 ns |
| EPIS | 4,83 | 3,88 | 4,39 | 4,23 | 7,36 | -0,97 ns | -0,95 ns | -0,44 ns |
| PDSGR | 1,89 | 3,22 | 2,29 | 2,4 | 1,20 | 0,09 ns | 1,33*** | 0,40** |
| NBRGR | 54,53 | 62,15 | 59,22 | 48,06 | 40,76 | 10,12*** | 7,62** | 4,69 ns |
| PMG | 33,99 | 51,26 | 37,26 | 50,16 | 28,81 | -5,50*** | 17,27*** | 3,27 ns |
| LONGE | 7,41 | 7,39 | 7,45 | 5,92 | 6,26 | 1,32*** | -0,02 ns | 0,04 ns |
| HAUT | 75,24 | 91,73 | 79,34 | 101,20 | 72,26 | -11,51*** | 16,49*** | 4,10* |
| ENTRN | 5,51 | 5,71 | 5,62 | 5,82 | 6,22 | -0,51*** | 0,20 ns | 0,11 ns |
| EPIAI | 122,4 | 117,30 | 117,30 | 117,30 | 122,00 | 2,56** | -5,04*** | -5,04*** |
| OID | 44,82 | 44,98 | 44,97 | 62,14 | 63,9 | -18,20*** | 0,16 ns | 0,01 ns |

Tableau 2.31 : Valeurs extrêmes des F_2 et HD pour les différents caractères

| Caractères | valeurs extrêmes | |
|---|------------------|-----------------|
| | F_2 | HD |
| rendement en grain par plante (g) | 30,110 - 0,360 | 14,089 - 2,997 |
| rendement en paille par plante (g) | 27,940 - 0,410 | 18,890 - 4,090 |
| indice de récolte | 0,792 - 0,037 | 0,523 - 0,299 |
| nombre d'épis par plante | 16,000 - 1,000 | 8,750 - 2,930 |
| poids des grains maître-brin (g) | 5,050 - 0,060 | 2,870 - 0,970 |
| nombre de grains maître-brin | 92,000 - 10,000 | 66,800 - 37,140 |
| poids de 1000 grains du maître-brin (g) | 63,920 - 3,520 | 43,090 - 21,860 |
| longueur de l'épi (cm) | 11,200 - 3,200 | 10,570 - 5,980 |
| hauteur de la tige (cm) | 108,000 - 27,000 | 99,900 - 47,650 |
| nombre d'entre-nœuds | 7,000 - 4,000 | 6,330 - 4,480 |
| résistance à l'oïdium | 5,000 - 0,000 | 3,000 - 0,000 |
| résistance à l'helminthosporiose | 5,000 - 0,000 | 4,000 - 0,000 |

Tableau 2.32 : Comparaison des estimations de la variance génétique en F_2 et pour les lignées HD

| Caractères | $\sigma^2_{PF_2}$ | σ^2_{EHD} | $\sigma^2_{GF_2}$ (1) | σ^2_{GHD} (2) | (2)/(1) | CVG en % | |
|------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|----------|----------|-------|
| | | | | | | HD | F_2 |
| RDTGR | 31,96 | 19,09 | 12,87 | 13,59 | 1,06 ns | 54,9 | 51,2 |
| RDTPA | 31,39 | 30,60 | 0,79 | 19,04 | 24,10*** | 49,8 | 11,1 |
| IR | 9,29.10 ⁻³ | 7,46.10 ⁻³ | 1,83.10 ⁻³ | 4,22.10 ⁻³ | 2,31* | 15,6 | 9,4 |
| EPIS | 5,24 | 4,99 | 0,25 | 3,06 | 12,24*** | 36,2 | 11,4 |
| PDSGR | 0,82 | 0,26 | 0,56 | 0,58 | 1,03 ns | 63,5 | 32,9 |
| NBRGR | 224,74 | 116,12 | 108,62 | 153,18 | 1,410* | 22,7 | 17,6 |
| PMG | 70,44 | 31,45 | 38,99 | 75,49 | 1,94* | 8,2 | 16,8 |
| LONGE | 1,98 | 0,76 | 1,22 | 2,420 | 1,98* | 21,0 | 14,8 |
| HAUT | 238,12 | 37,81 | 200,31 | 262,00 | 1,31 ns | 21,5 | 17,8 |
| ENTRN | 0,32 | 0,19 | 0,12 | 0,132 | 0,62 ns | 6,6 | 6,3 |

* = significatif à $p = 0,975$

Pour le rendement en paille et le nombre d'épis par plante la moyenne des lignées HD est statistiquement égale aux moyennes F_1 et F_2 . Notons que l'analyse de Hayman réalisée en 1986, montre sur ce croisement de la « superdominance » pour la longueur de l'épi et la hauteur de la tige. L'absence de différence $\overline{HD} - \overline{F_1}$ pour la longueur de l'épi ne confirme donc pas cette conclusion. Par contre, il y a bien compatibilité des deux études pour la hauteur de la tige. Cette différence de comportement pourrait être due à des effets milieu et année. En moyenne, les lignées HD sont plus résistantes à l'oïdium et plus tardives que les parents, la F_1 et la F_2 . Pour le rendement en grain et le poids des grains du maître-brin, elles sont en moyenne inférieures aux parents et à la F_1 . Pour le poids de 1000 grains, la hauteur de la tige et le nombre d'entre-nœuds elles sont inférieures aux parents, à la F_1 et à la F_2 . Le nombre de grains moyen des lignées HD est inférieur à la F_1 mais supérieures aux parents. Pour le rendement en paille et l'indice de récolte, elles sont en moyenne, égales aux parents et à la F_1 .

Le test de Student (tableau 2.30) montre qu'à l'exception des caractères rendement en paille, nombre d'épis par plante et indice de récolte, il y a une différence significative entre la moyenne parentale et la moyenne des lignées HD. Il y aurait donc des déviations par rapport à l'additivité des effets des locus (épistasie et ou compétition). En effet ce test, comme celui des contrastes $2\overline{F_2} - \overline{F_1} - \overline{P}$ peut être significatif même en absence d'épistasie. L'existence de compétition entre plantes peut entraîner la signification de ce test. On peut d'ailleurs remarquer que la non additivité détectée par le contraste C pour le poids de mille grains et la hauteur de la tige (tableau 2.29, p. 88) est aussi détectée par la comparaison $\overline{HD} - \overline{P}$. Ce dernier test semble d'ailleurs révéler plus de caractères non additifs (rendement, nombre de grains, longueur de l'épi, hauteur). Du fait qu'il ne fait pas intervenir la F_2 , il est sans doute plus précis et donc plus puissant. En comparant les résultats des tests $\overline{HD} - \overline{P}$ et $2\overline{F_2} - \overline{F_1} - \overline{P}$, on trouve d'ailleurs plus de points communs entre les deux croisements Prato x CM 67 et Motan x CM 67. En effet, pour ces deux croisements, le rendement en grain, le nombre de grains et la longueur de l'épi apparaissent comme des caractères manifestant de la non additivité. On peut aussi penser que le test $\overline{HD} - \overline{P}$ révèle moins les effets de compétition et plus des effets d'épistasie que le test $2\overline{F_2} - \overline{F_1} - \overline{P}$. Ces effets d'épistasie seraient alors négatifs pour le rendement et le poids de 1000 grains en particulier. Tout se passe comme si la recombinaison détruisait des équilibres géniques réalisés chez les parents. Par contre pour le nombre de grains, cette recombinaison serait plutôt favorable. Cela tient sans doute aux états de couplage ou de répulsion des gènes contrôlant les caractères (Snape et Simpson, 1981).

3.2. - Variabilité des lignées HD et possibilités de transgression

La question qu'un sélectionneur se pose, est de savoir si les meilleures lignées dépasseront le meilleur parent ou la F_1 . Dans le cas où les lignées HD sont supérieures ou égales à la F_1 , nous pouvons conclure que nous sommes en présence d'hétérosis fixable dû à des gènes dominants favorables à l'état homozygote.

3.2.1. - Distribution des lignées HD, F_1 et F_2

Les valeurs des plantes F_2 sont plus étalées que celles des HD (tableau 2.31). On s'attend d'un point de vue génétique, à l'inverse. La différence de variance doit être de nature environnementale. Dans le cas des lignées HD, il s'agit de la moyenne de plusieurs individus (moyenne parcellaire), alors que pour les F_2 il s'agit de valeurs individuelles. Donc la variance environnementale est plus forte à ce niveau. De plus, l'effet de la compétition entre

plantes F_2 génétiquement différentes pourrait augmenter encore cette variance, alors qu'en HD, dans une parcelle, la compétition est entre plantes génétiquement identiques.

3.2.1.1. - Rendement en grain et en paille

Pour le rendement en grain, les meilleures lignées HD (7) sont équivalentes à la F_1 . Pour le poids des grains du maître-brin, très lié au rendement et plus hétérotique, une lignée a donné un poids des grains statistiquement égal à celui de la F_1 .

Pour le rendement en paille, caractère non hétérotique, 22 lignées HD viennent en tête suivies de la variété Motan, 3 lignées surpassent statistiquement la variété Motan qui est elle-même supérieure à la variété CM 67 et égale à la F_1 . Si on compare les HD par rapport à la F_1 , on remarque que 5 lignées HD sont statistiquement supérieures à la F_1 . Elles ont donc pu fixer à l'état homozygote des gènes favorables.

Pour l'indice de récolte, caractère non hétérotique, 31 lignées HD sont statistiquement égales à la F_1 et à la variété Motan.

3.2.1.2 – Composantes du rendement

Pour le nombre d'épis par plante et le nombre de grains, caractères non hétérotiques, on obtient encore 50 % des lignées au dessus de la moyenne F_1 .

Pour le poids de 1000 grains, caractère hétérotique, toutes les lignées HD sont inférieures à la F_1 (51,3 g) et à la variété Motan (égale à la F_1). 21 lignées sont égales à la variété CM 67.

3.2.1.3. – Caractères morphologiques

Pour la longueur de l'épi où $\overline{HD} = \overline{F_1}$, 11 lignées HD ont une longueur de l'épi supérieure à la F_1 et 14 lignées HD ont une longueur de l'épi inférieure à la F_1 (planche III, figure 1, p. 101).

Pour la hauteur de la tige, où $\overline{HD} < \overline{F_1}$, 3 lignées HD présentent une hauteur plus grande que celle de la F_1 mais égale à la variété Motan, ce qui est en faveur de gènes dominants favorables. 31 lignées HD présentent une hauteur statistiquement inférieure à la F_1 et 17 lignées HD ont une hauteur de la tige inférieure à CM 67 (parent le plus court).

Pour le nombre d'entre-nœuds, caractère où $\overline{HD} = \overline{F_1}$, la variété Motan et la F_1 sont égales entre elles, et ont un nombre inférieur à la variété CM 67. 11 lignées HD sont égales à la variété CM 67. 3 lignées HD sont supérieures à la F_1 et 23 lignées HD lui sont inférieures.

3.2.1.4. – Autres caractères

Pour la précocité à l'épiaison, 36 lignées HD sont statistiquement plus tardives que la F_1 avec une différence maximale de 17,7 jours. 7 lignées HD sont plus précoces que la F_1 (planche III, figure 2, p. 101).

Pour la résistance à l'oïdium, 47 lignées HD sont statistiquement égales à la F_1 , à la F_2 et à la variété Motan.

3.2.2. – Remarque sur le pourcentage de lignées HD supérieures à la F_1

Ce pourcentage est fonction de 3 paramètres :

- la différence entre les moyennes $\overline{F_1}$ et \overline{HD} , avec $\overline{HD} < \overline{F_1}$ lorsqu'il y a de l'hétérosis ;



Planche III

Figure 1 : Epis de 6 lignées HD issues de CM 67 x Motan.

Figure 2 : Deux lignées HD se distinguant par le temps d'épiaison, à gauche la lignée tardive, à droite la lignée précoce.



lignés DH molan. X C.M.G.F.

1



2

- la variance génétique entre lignées HD qui doit permettre de compenser la différence $\overline{F_1} - \overline{HD}$; il en résulte que ce pourcentage sera d'autant plus faible que le caractère sera plus hétérotique ; c'est bien ce qui est observé : il y a très peu de lignées meilleures que la F_1 pour les caractères les plus hétérotiques (poids des grains du maître-brin, poids de mille grains et hauteur) ;

- enfin, pour l'ensemble des caractères, le nombre de lignées HD supérieures à la F_1 tend à être lié positivement avec l'héritabilité du caractère ($r = 0,75^*$). Cette relation est essentiellement due au rendement en paille et au nombre d'épis par plante. Pour ces deux caractères à h^2 très faible, l'effet fort du milieu (erreur expérimentale) ne permet pas d'identifier les meilleures lignées HD.

3.3. – Variations génétiques des caractères et variations environnementales

Les variances génétiques estimées sont données au tableau 2.32, p. 96.

Avec une additivité stricte on attend $\text{var } G_{HD} = 2 \text{ var } G_{F_2}$. Cela apparaît vérifié pour l'indice de récolte, le nombre de grains, le poids de 1000 grains et la longueur de l'épi. Cela n'est pas une preuve suffisante pour conduire à l'additivité. Il faut aussi considérer l'hétérosis au niveau des caractères. Au niveau de l'analyse diallèle, la longueur de l'épi et le nombre de grains présentent une composante d'ASC supérieure à la composante d'AGC. Par contre, le poids des grains du maître-brin, la hauteur de la tige et le nombre d'entre-nœuds ont une forte composante d'additivité.

En absence d'épistasie et en présence de dominance, $\text{var } G_{F_2} = \sigma^2_A + \sigma^2_D$ et $\text{var } G_{HD} = 2\sigma^2_A$; on s'attend à $\text{var } G_{HD} \leq 2 \text{ var } G_{F_2}$.

Donc pour le rendement en grain, le poids des grains du maître-brin, la hauteur de la tige et le nombre d'entre-nœuds, il est possible que la variance de dominance soit du même ordre que la variance d'additivité. Pour le rendement en paille et le nombre d'épis par plante, la variance génétique en F_2 est probablement sous-estimée. Cela tend à être confirmé par l'examen des coefficients de variation génétique. Même si l'on s'attend en F_2 à avoir un coefficient de variation génétique plus faible que pour les lignées HD (30 % dans le cas d'additivité), il est anormalement faible pour le rendement en paille et aussi, mais de façon moins nette, pour le nombre d'épis. Ces deux caractères sont liés à l'aptitude à la compétition.

Pour comparer ces variances, nous avons considéré :

- que les variances environnementales étaient les mêmes dans un peuplement homogène que dans un peuplement hétérogène,
- que la variance génétique s'exprimait de la même façon dans les deux peuplements.

Cela revient à ignorer l'effet de la compétition.

En ce qui concerne les variances environnementales, elles sont attendues plus fortes dans un peuplement hétérogène. En effet, toute variation aléatoire du milieu, affectant une plante, peut être amplifiée par la réaction de ses voisins du fait de leur génotype variable. En fait, à la variation du milieu, il s'ajoute des interactions génotype x milieu représentant la variance de compétition, en milieu génétiquement hétérogène. Cette composante n'existe pas pour les lignées HD.

Cependant, le fait que nous ayons obtenu, pour le rendement en paille, $\text{var } E_{HD} \cong \text{var } P_{F_2}$ conduit bien aussi à penser que c'est plutôt la variance génétique en F_2 qui a été diminuée. Cela peut se comprendre dans un milieu « stressant » (à cause de la sécheresse). Dans ces conditions, dans un peuplement homogène, la demande des plantes est simultanée, le stress est maximum, et il apparaîtra mieux les adaptations à ces conditions. Au contraire en F_2 , la densité « biologique » étant plus faible (mélange d'individus vigoureux, moins vigoureux et de stades différents), la pression de compétition sera plus faible et la variance génétique

Tableau 2.33 : Héritabilités au sens large des F₂ et des HD.

| caractères | HD | | F ₂ |
|---------------------------------|------------|------------|----------------|
| | dispositif | individuel | individuel |
| rendement en grains | 0,76 | 0,39 | 0,37 |
| rendement en paille | 0,66 | 0,34 | 0,02 |
| indice de récolte | 0,46 | 0,11 | 0,05 |
| nombre d'épis par plante | 0,69 | 0,34 | 0,04 |
| poids des grains du maître-brin | 0,87 | 0,64 | 0,63 |
| nombre de grains | 0,86 | 0,54 | 0,45 |
| poids de 1000 grains | 0,85 | 0,64 | 0,48 |
| longueur de l'épi | 0,92 | 0,74 | 0,58 |
| hauteur de la tige | 0,94 | 0,84 | 0,79 |
| nombre d'entre-noeuds | 0,72 | 0,37 | 0,35 |

2.34 : Matrice de corrélations phénotypiques au niveau des lignées HD (ddl = 51)

| | RDTPA | IR | EPI/PL | PDSGR | NBRGR | PMG | LONGE | HAUT | ENTRN | EPIAI | OID |
|--------|--------------|--------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|---------------|--------|
| RDTGR | 0,808 | 0,286 | 0,829 | 0,650 | 0,601 | 0,534 | 0,253 | 0,522 | 0,049 | -0,252 | -0,357 |
| RDTPA | | -0,094 | 0,762 | 0,669 | 0,673 | 0,520 | 0,426 | 0,648 | 0,257 | -0,384 | -0,248 |
| IR | | | 0,194 | 0,341 | 0,283 | 0,327 | 0,006 | 0,109 | -0,148 | -0,113 | -0,374 |
| EPI/PL | | | | 0,416 | 0,477 | 0,253 | 0,163 | 0,248 | -0,154 | -0,072 | -0,276 |
| PDSGR | | | | | 0,866 | 0,880 | 0,596 | 0,855 | 0,409 | -0,625 | -0,384 |
| NBRGR | | | | | | 0,544 | 0,689 | 0,782 | 0,271 | -0,638 | -0,387 |
| PMG | | | | | | | 0,384 | 0,740 | 0,461 | -0,496 | -0,327 |
| LONGE | | | | | | | | 0,582 | 0,321 | -0,456 | -0,361 |
| HAUT | | | | | | | | | 0,594 | -0,738 | -0,252 |
| ENTRN | | | | | | | | | | -0,304 | 0,111 |
| EPIAI | | | | | | | | | | | 0,334 |

Tableau 2.35 : Matrice de corrélations phénotypiques au niveau des F₂ (ddl = 213)

| | RDTPA | IR | EPI/PL | PDSGR | NBRGR | PMG | LONGE | HAUT | ENTRN |
|--------|--------------|-------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| RDTGR | 0,914 | 0,354 | 0,824 | 0,732 | 0,671 | 0,513 | 0,522 | 0,561 | 0,340 |
| RDTPA | | 0,059 | 0,878 | 0,645 | 0,629 | 0,415 | 0,491 | 0,591 | 0,351 |
| IR | | | 0,096 | 0,415 | 0,348 | 0,444 | 0,238 | 0,117 | 0,108 |
| EPI/PL | | | | 0,459 | 0,505 | 0,241 | 0,451 | 0,475 | 0,250 |
| PDSGR | | | | | 0,892 | 0,800 | 0,691 | 0,671 | 0,393 |
| NBRGR | | | | | | 0,549 | 0,807 | 0,689 | 0,489 |
| PMG | | | | | | | 0,395 | 0,447 | 0,247 |
| LONGE | | | | | | | | 0,606 | 0,399 |
| HAUT | | | | | | | | | 0,506 |

N.B. Seules les corrélations supérieures à 0,400 sont marquées en gras.

pourra être diminuée. Ce problème se pose surtout pour le rendement en paille et le nombre d'épis par plante, caractères qui sont d'ailleurs fortement liés ($r_p = 0,88^{***}$, tableau 2.35). De plus, la compétition a éliminé en F_2 environ 20 % des plantes, sans doute les plantes les plus faibles, alors que celles-ci ont été maintenues au niveau des lignées HD. Cela contribue ainsi à sous-estimer la variance génétique en F_2 pour les caractères les plus liés à la compétition.

L'augmentation de la variance environnementale et l'écrasement de la variance génétique au niveau des F_2 doivent d'ailleurs être liés. L'effet de la compétition entre génotypes différents se traduit par des interactions génotype x milieu et génotype x génotype qui contribuent à diminuer la variance génétique.

Que ce soit le rendement en paille et le nombre d'épis qui soient affectés le plus par ces phénomènes de compétition apparaît tout à fait logique, puisqu'il s'agit de deux caractères associés à l'extension « horizontale » des plantes et à la compétition pendant la phase végétative (tallage). La compétition entre lignes, plus forte au niveau des lignées HD (parcelles réduites à une ligne, homogène) qu'au niveau F_2 (parcelles de 3 lignes, hétérogènes), peut aussi avoir contribué à augmenter la variance génétique entre lignées. Cela peut être particulièrement vrai pour le rendement en paille et le nombre d'épis. Dans cette compétition interligne, en plus du nombre d'épis, la hauteur aurait pu jouer un rôle comme cela a déjà été observé sur le blé par Goldringer et *al.* (1994). Cela ne s'observe pas, ou n'a pas de conséquences nettes sur l'expression de la variance génétique dans notre expérience. La hauteur (caractère d'extension verticale) apparaîtrait plutôt comme moins sensible à la compétition que le nombre de talles, comme cela a été observé chez les plantes fourragères (Gallais, 1972). Cependant, il faut noter que le test de $C = 2 F_2 - F_1 - \bar{P}$ est bien significatif pour le croisement Motan x CM 67. Il pourrait donc traduire plus un effet de compétition qu'un effet d'épistasie.

3.4. – Héritabilités des HD et des F_2

Au niveau des lignées HD, la hauteur de la tige, la longueur de l'épi, le poids de 1000 grains, le poids des grains du maître-brin, le nombre d'entre-nœuds et le nombre de grains ont présenté une héritabilité élevée (tableau 2.33). Les caractères à plus faible héritabilité sont le rendement en grain par plante, le rendement en paille ou ceux directement liés à ces deux caractères (indice de récolte et nombre d'épis par plante au niveau des lignées).

En F_2 , on retrouve une assez forte héritabilité pour le poids des grains du maître-brin, la longueur de l'épi, la hauteur de la tige, le poids de 1000 grains et le nombre de grains du maître-brin. L'héritabilité est très faible, anormalement faible pour l'indice de récolte, le rendement en paille et le nombre d'épis par plante. Comme attendu, l'héritabilité au sens large des caractères des HD est supérieure à celle des F_2 , quel que soit le caractère étudié (tableau 2.33, p. 104). On note toujours le problème du rendement en paille et du nombre d'épis par plante pour lesquels la variance génétique en F_2 est sous estimée. Cela correspond toutefois aussi à deux caractères à faible héritabilité. Il semble y avoir aussi un problème avec l'indice de récolte. Cependant, nous avons vu que pour ces trois caractères, du fait des problèmes de compétition interligne, il pourrait aussi y avoir surestimation de la variance génétique. Le poids de grain du maître-brin se confirme comme un caractère moins sensible aux variations du milieu et à la compétition que le rendement lui même.

3.5. – Corrélations phénotypiques et génétiques au niveau des HD et des F_2

Les matrices de corrélations phénotypiques des HD et des F_2 sont identiques, sauf pour les corrélations entre le rendement en grain et la longueur de l'épi ($r_{HD} = 0,25$ et $r_{F_2} = 0,52$), le

Tableau 2.36 : Matrice de corrélations génétiques au niveau des lignées HD

| | RDTPA | IR | EPI/PL | PDSGR | NBRGR | PMG | LONGE | HAUT | ENTRN | OID |
|--------|--------------|--------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------|
| RDTGR | 0,876 | 0,343 | 0,886 | 0,687 | 0,622 | 0,549 | 0,268 | 0,565 | 0,063 | -0,357 |
| RDTPA | | -0,067 | 0,750 | 0,750 | 0,721 | 0,611 | 0,454 | 0,772 | 0,335 | -0,248 |
| IR | | | 0,210 | 0,340 | 0,292 | 0,323 | -0,049 | 0,132 | -0,105 | -0,374 |
| EPI/PL | | | | 0,399 | 0,436 | 0,545 | 0,093 | 0,265 | -0,269 | -0,276 |
| PDSGR | | | | | 0,877 | 0,892 | 0,596 | 0,903 | 0,484 | -0,384 |
| NBRGR | | | | | | 0,578 | 0,690 | 0,830 | 0,340 | -0,387 |
| PMG | | | | | | | 0,392 | 0,795 | 0,551 | -0,327 |
| LONGE | | | | | | | | 0,593 | 0,374 | -0,361 |
| HAUT | | | | | | | | | 0,647 | -0,252 |
| ENTRN | | | | | | | | | | 0,111 |
| EPIAI | | | | | | | | | | 0,334 |

Tableau 2.37 : Matrice de corrélations génétiques au niveau des F₂

| | RDTPA | IR | EPI/PL | PDSGR | NBRGR | PMG | LONGE | HAUT | ENTRN |
|--------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| RDTGR | 0,978 | 0,512 | 0,846 | 0,997 | 0,727 | 0,669 | 0,636 | 0,685 | 0,709 |
| RDTPA | | 0,349 | 0,954 | 0,660 | 0,618 | 0,427 | 0,603 | 0,847 | 0,025 |
| IR | | | 0,202 | 0,591 | 0,622 | 0,564 | 0,610 | 0,280 | 0,051 |
| EPI/PL | | | | 0,548 | 0,549 | 0,322 | 0,678 | 0,614 | 0,052 |
| PDSGR | | | | | 0,751 | 0,767 | 0,857 | 0,576 | 0,659 |
| NBRGR | | | | | | 0,648 | 0,704 | 1,027 | 0,889 |
| PMG | | | | | | | 0,601 | 0,671 | 0,415 |
| LONGE | | | | | | | | 0,911 | 0,657 |
| HAUT | | | | | | | | | 0,351 |

N.B. Seules les corrélations supérieures à 0,500 sont marquées en gras.

nombre d'épis et la hauteur de la tige ($r_{HD} = 0,25$ et $r_{F_2} = 0,48$) et entre le nombre d'entre-nœuds et le poids de 1000 grains ($r_{HD} = 0,46$ et $r_{F_2} = 0,25$) (tableaux 2.34 et 2.35).

3.5.1. – Corrélations phénotypiques et génétiques au niveau des HD

Les corrélations génétiques et phénotypiques au niveau des HD sont très voisines (tableaux 2.34 et 2.36).

La présence de l'oïdium diminue le rendement en grain ($r_p = -0,36^{**}$). Le rendement en paille est très lié avec le nombre d'épis par plante ($r_p = 0,76^{***}$) et la hauteur de la tige ($r_p = 0,65^{***}$). Les géotypes les plus précoces produisent plus de biomasse ($r_p = -0,38^{**}$), ont une hauteur ($r_p = -0,74^{***}$), un nombre de grains ($r_p = -0,64^{***}$), un poids des grains du maître-brin ($r_p = -0,63^{***}$), un poids de 1000 grains ($r_p = -0,50^{***}$) et une longueur de l'épi ($r_p = -0,46^{***}$) élevés. Le rendement en grain est fortement lié au rendement en paille ($r_p = 0,81^{***}$ chez la plante et $r_p = 0,67^{***}$ chez le maître-brin), au poids des grains du maître-brin ($r_p = 0,65^{***}$), au nombre de grains ($r_p = 0,60^{***}$ chez la plante et $0,87^{***}$ chez le maître-brin) et au poids de 1000 grains ($r_p = 0,53^{***}$ chez la plante et $0,88^{***}$ chez le maître-brin).

Pour les corrélations génétiques, l'indice de récolte n'est corrélé qu'avec le poids des grains du maître-brin, le nombre de grains et le poids de 1000 grains. Le nombre de grains, le poids des grains du maître-brin et le poids de 1000 grains sont corrélés avec l'ensemble des caractères. Le nombre d'épis par plante est corrélé avec le rendement en grain, le rendement en paille, le poids des grains du maître-brin, le nombre de grains et le poids de 1000 grains. La hauteur de la tige est corrélée avec la majorité des caractères à l'exception de l'indice de récolte et du nombre d'épis par plante. La longueur de l'épi et le nombre d'entre-nœuds sont corrélés avec le rendement en paille, le poids des grains du maître-brin, le nombre de grains, le poids de 1000 grains et le nombre d'entre-nœuds.

3.5.2. – Corrélations génétiques au niveau des F_2 et comparaison aux corrélations au niveau HD

Les corrélations génétiques au niveau de la F_2 sont dans l'ensemble élevées pour les différents couples de caractères à l'exception de 3 couples (entre-nœuds - nombre d'épis par plante, nombre d'entre-nœuds - rendement en paille et nombre d'entre-nœuds - indice de récolte).

Les matrices de corrélations génétiques au niveau des F_2 et des HD sont assez similaires si l'on exclut les deux caractères hauteur et nombre d'entre-nœuds (tableaux 2.36 et 2.37). On note toutefois deux autres corrélations assez différentes impliquant la longueur de l'épi en corrélation avec l'indice de récolte et avec le nombre d'épis par plante : elles sont pratiquement nulles au niveau des HD et assez fortes au niveau des F_2 . Pour ces deux caractères (indice de récolte et nombre d'épis par plante), il y a un problème d'estimation de la variance génétique. Il y avait aussi un problème avec la variance génétique du rendement en paille en F_2 , mais les corrélations observées en F_2 sont pourtant très proches de celles observées au niveau HD. Cependant, pour les corrélations, il y a encore un problème avec les caractères liés au rendement en paille : la hauteur des plantes et le nombre d'entre-nœuds. Pour le nombre d'entre-nœuds, les différences pourraient être dues à des effets de dominance au niveau F_2 . Si l'on exclut les caractères longueur de l'épi, hauteur des plantes et nombre d'entre-nœuds, le parallélisme des corrélations tend à montrer un rôle assez fort de l'additivité. Indépendamment des problèmes d'estimation, des différences au niveau des deux matrices pourraient être générées par des effets de dominance. Mais au niveau des caractères du rendement et de ses composantes, la variabilité de la population HD semble être organisée et fonctionner comme la population F_2 .

3.6. - *Discussion et conclusion*

Effets génétiques

Du point de vue de l'étude génétique, l'intérêt des lignées HD, par la comparaison de la moyenne au parent moyen, est de permettre un test de non additivité des effets des locus non affectés par la compétition entre génotypes différents, comme le sont les performances d'individus F_2 , lorsqu'ils sont cultivés à forte densité. Ce test a ainsi permis de détecter des effets non additifs pour le rendement et sa composante nombre de grains. Globalement, la variabilité génétique semble bien s'exprimer de la même façon au niveau HD et F_2 , voire F_1 .

Effet de la compétition entre plantes en F_2 et entre lignes pour les lignées HD

Comme dans l'étude précédente pour la comparaison $2F_2 - F_1 - \bar{P}$, l'effet de la compétition semble bien pouvoir expliquer le comportement particulier du rendement en paille et des caractères qui lui sont liés (nombre d'épis et hauteur des plantes). Pour le rendement en paille et le nombre d'épis en particulier, la compétition entre plantes F_2 a augmenté la variance environnementale et sans doute diminué la variance génétique. Au niveau des lignées HD, la compétition entre lignes homogènes due aux différences de hauteur plus nettes qu'au niveau F_2 a plutôt contribué à augmenter la variance génétique entre lignées par rapport à la variance génétique exprimée en F_2 . Cet effet d'interaction entre lignes aurait pu être révélé en semant 3 lignes pour chaque lignée HD et en ne récoltant que sur la ligne centrale. Cela n'a pas été possible par manque de semences. Malgré cela, la comparaison F_2 , lignées HD a été très instructive. Elle montre qu'en F_2 , il n'est pas possible de sélectionner pour le rendement en paille, le nombre d'épis par plante et l'indice de récolte. Cependant pour les caractères du maître-brin (poids de grains, nombre de grains, poids de 1000 grains, longueur de l'épi) d'après les variances génétiques et les corrélations, la variabilité semble bien s'exprimer de la même façon en F_2 qu'au niveau des lignées HD. Il faudrait toutefois confirmer cette conclusion par une expérience de sélection.

Possibilité de fixation de l'hétérosis

Dans le croisement étudié, l'hétérosis par rapport au parent moyen était suffisamment important pour le poids des grains du maître-brin (78,8 %) et le poids de 1000 grains (29,9 %). C'est bien sûr pour ces caractères que le pourcentage de lignées transgressives par rapport à la F_1 a été le plus faible. Cependant, dans tous les cas, la variation a été telle qu'au moins une lignée atteignait la valeur F_1 . Cette comparaison ne tient pas compte de l'héritabilité de lignées HD supérieures à la valeur F_1 . Le calcul de la probabilité de transgression pour les deux caractères assez hétérotiques conduit aux résultats suivants :

- 4,2 % pour le poids de mille grains
- 2,4 ‰ pour le poids des grains du maître-brin.

Pour le poids des grains du maître-brin, on peut penser que l'hétérosis est surestimé, du fait de l'erreur expérimentale. Un hétérosis de 78,8 % est peu probable. Si cet hétérosis était réduit de 30 %, la probabilité de fixation devient de 6 %. Pour le rendement qui dans cette expérience apparaît avec un hétérosis parent moyen assez faible (5,6 %), il y a une nette infériorité de la moyenne \overline{HD} par rapport à \bar{P} . Avec les estimations de variance obtenues, la probabilité de transgression est de 37 %. Cependant, si la variance du rendement était diminuée de 40 % (ce qui reste dans l'intervalle de confiance de l'estimation), la probabilité de transgression ne serait que de 1,6 %.

Il apparaît donc une grande sensibilité du % de lignées transgressives à la précision au niveau de l'hétérosis et de la variance génétique. Ces calculs montrent toutefois que la

variation génétique observée dans le croisement est telle qu'il est possible d'obtenir des lignées transgressives, même pour des caractères assez hétérotiques. Cependant, il faudra étudier au moins une centaine de lignées, sinon plus, et d'autant plus que l'hétérosis sera fort et l'héritabilité faible. Les résultats expérimentaux sont une autre expression du même résultat, mais au niveau des valeurs phénotypiques.

3^{ème} PARTIE

**STRUCTURE ET GENETIQUE DES HORDEINES ET ILLUSTRATION DE
LA SEGREGATION DES ALLELES SUR UNE POPULATION F₂ ET
LIGNEES HAPLOIDES DOUBLEES CORRESPONDANTES**

3^{EME} PARTIE**STRUCTURE ET GENETIQUE DES HORDEINES ET ILLUSTRATION DE LA SEGREGATION DES ALLELES SUR UNE POPULATION F₂ ET LIGNEES HAPLOIDES DOUBLES CORRESPONDANTES**

En relation avec la production des plantes HD et leur exploitation dans l'analyse de l'hétérosis, nous avons abordé le travail sur les hordéines pour confirmer sur le plan génétique leur origine gamétique en comparaison avec les individus F₂ et vérifier si le milieu de culture ne sélectionne pas des génotypes d'embryons. Ces objectifs nous ont conduit à donner un état des connaissances sur la structure des hordéines et la progression de nos connaissances sur les gènes bi-alléliques et ensuite leur locus comme un locus multigénique (chapitre I), puis nous exposons les techniques électrophorétiques d'analyse des hordéines (chapitre II) et les résultats sur les ségrégations des phénotypes d'hordéines entre lignées HD et entre individus F₂ (chapitre III) et enfin nous répondons aux objectifs que nous nous étions fixés (chapitre IV).

I - LES HORDEINES, PROTEINES DE RESERVE MAJEURES DU GRAIN D'ORGE : STRUCTURE ET GENETIQUE**INTRODUCTION : LES REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.**

A cause de leur impact alimentaire, l'analyse des protéines des grains de céréales a été l'objet de très nombreux travaux qui ont abouti à un progrès réel de nos connaissances. Schématiquement, les étapes de ce progrès ont été les suivantes pour l'orge : dans les années 60, les méthodes d'extraction des protéines et de leur purification sont mises au point ; dans les années 70, les gènes sont reconnus ; dans les années 80, la cartographie de ces gènes est réalisée et commencent les travaux de séquençage ; et enfin dans les années 90, la régulation de la synthèse de protéines et le mécanisme de leur transport et dépôt dans les cellules de l'albumen sont abordés (les travaux sur la régulation de la synthèse des protéines ne seront pas traités).

La chimie analytique des protéines du grain d'orge et la génétique formelle des hordéines sont présentées de manière exhaustive dans deux publications de synthèse de Shewry et Mifflin (1982 et 1983) auxquelles s'ajoute une mise à jour de Shewry et Tatham (1990). Les premières données de génétique moléculaire sont résumées par Kreis et *al.* (1987). Un aperçu chimique et cytologique plus vaste sur les protéines de réserve des céréales est donné dans plusieurs chapitres de l'ouvrage de Bewley et Black (1985). La partie "protéine", traitée dans l'ouvrage important, mais aussi plus ancien, de Briggs (1978), est totalement dépassée par les connaissances actuelles. Signalons enfin l'ouvrage de base sur la structure des protéines de Creighton (1993) qui ne traite pas des protéines de réserve des plantes.

En exploitant cette bibliographie, nous nous proposons de situer les hordéines dans l'ensemble des protéines du grain, de décrire leur structure chimique et d'expliquer leur déterminisme génétique.

1 - LES HORDEINES PARMIS LES PROTÉINES DU GRAIN D'ORGE

Nous partons de la classification des protéines solubles suivant leur caractère de solubilité, et nous donnons ensuite les caractères chimiques des différentes espèces.

1.1. - *Classification des protéines suivant leur caractère de solubilité*

La nomenclature des protéines définies selon leurs caractéristiques de solubilité a été établie par *Osborne* en 1895 sur les protéines extraites du grain d'orge. Elle s'est révélée jusqu'à notre époque la plus simple et adoptée par tous les chercheurs. Suivant les solvants solubilisant les protéines, cet auteur distingue quatre groupes de protéines :

- les albumines solubles dans l'eau,
- les globulines solubles dans les solutions salines diluées,
- les prolamines solubles dans les solutions aqueuses alcooliques,
- Les glutélines solubles dans les solutions acides ou basiques diluées.

Comme il est impossible d'obtenir une véritable fraction albumine avec l'eau à l'extraction, à cause de la présence des sels minéraux dans le grain, les albumines et les globulines sont extraites ensemble, et les albumines sont ensuite isolées par dialyse contre l'eau. De ce fait, albumines et globulines sont traitées dans un groupe.

1.2. - *Les caractères chimiques des protéines*

Nous parcourons les trois groupes de protéine en prenant soin de préciser leurs fonctions, soit de protéine membranaire ou métabolique, soit de protéine de réserve de l'albumen et de l'embryon du grain.

1.2.1. - *Les albumines et les globulines*

Ces protéines ont une composition en acides aminés (a.a.) assez proches comprenant tous les a.a. essentiels (ceux que les animaux sont incapables de synthétiser). Les globulines se caractérisent par davantage d'arginine et de cystéine. Folkes et Yemm (1956) ont fait parallèlement un extrait d'albumines des grains et du chaume chez l'orge et ont constaté que la composition en a.a. et leur proportion étaient identiques dans les deux extraits. Les albumines sont donc des protéines structurales incorporées dans les membranes cellulaires ou composants des enzymes. Les globulines sont également chez l'orge des protéines structurales, car elles sont absentes des sites de dépôt des protéines de réserve, les corps protéiques (que nous analyserons plus loin, paragraphe 2.3.1., p. 120). Mais les globulines peuvent être des protéines de réserve : elles sont la protéine de réserve principale du grain d'avoine.

Les sous-unités (polypeptides de P.M. différents) des deux protéines se situent sur les profils électrophorétiques dans le même intervalle de migration et leur poids moléculaire (P.M.) varie entre 15 et 66 kDa (Rhodes et Gill, 1980, dans Shewry et Miñlin, 1983).

1.2.2. - *Les prolamines*

Par rapport aux deux protéines précédentes, les prolamines sont caractérisées par une proportion importante de proline et glutamine (d'où l'origine du nom générique de cette protéine, prol-amine), et une proportion plus faible en a.a. essentiels. Il y a un nom propre de prolamine par céréale ; celui de l'orge est hordéine. Des analyses *in situ* des corps protéiques des cellules de l'albumen de l'orge (Cameron-Mills, 1980 et Cameron-Mills et Wettstein, 1980) ont montré que les hordéines en sont les composants. Les hordéines sont donc les protéines de réserve de l'orge. Elles sont un groupe composite de protéines que nous

décrivons plus loin. Le P.M. des sous-unités de l'ensemble des hordéines se situe entre 25 et 90 kDa.

1.2.3. - Les glutélines

Les glutélines constituent la fraction finale des corps azotés du grain, après que les trois groupes de protéines précédents aient été extraits. Il en résulte que la composition en a.a. des glutélines varie suivant les procédures d'extraction. Toutefois, elle est assez proche de celle des albumines et globulines, et en comparaison avec les hordéines, le pourcentage des glutamates et des prolines est plus faible, et celui de lysine plus élevé. L'intervalle de variation du P.M. des sous-unités est le même que celui des hordéines, 25 à 90 kDa. Les glutélines sont absentes des corps protéiques, elles sont donc des protéines structurales. Le nom générique des glutélines de l'orge est hordénine, nom encore peu utilisé par les auteurs.

1.2.4. - Conclusion

L'état des protéines dans le grain d'orge est le suivant : albumines, globulines et glutélines sont des protéines structurales ou métaboliques ; les prolamines, sous le nom générique d'hordéines, sont les protéines de réserve de l'albumen et du cotylédon de l'embryon. La composition en acides aminés principaux des hordéines détermine la composition finale en a.a. des protéines du grain et sa valeur nutritive.

1.3. - *Les composants protéiques du grain d'orge et conséquence sur la valeur nutritive du grain.*

1.3.1. - Analyse quantitative des protéines du grain

Suivant l'apport d'engrais azotés au sol, la quantité de protéine varie entre 9 et 13 % (Duffus et *al.*, 1992) et la teneur en azote du grain (albumen et embryon) varie entre 1.5 et 2 % de la matière sèche du grain. Les composés essentiels du grain sont les carbohydrates.

Dans la faible fraction azotée du grain, les protéines forment le constituant majeur : hordéines 36 à 49 % de l'azote total du grain, albumines et globulines, 22 à 27 %, résidus (les glutélines) 28 à 37 % (Kirkman et *al.*, 1982). Cependant, il y a une très faible quantité non-protéique représentée par les a.a. libres, l'acide γ -aminobutyrique, les acides nucléiques et d'autres corps non protéiques non identifiés.

Les protéines du grain se répartissent quantitativement entre les groupes suivants en % des protéines totales : 13 % d'albumine, 12 % de globulines, 52 % d'hordéines et 23 % de glutélines (selon Payne et Rhodes, 1982, dans Shewry et Mifflin, 1983). Ces quantités varient légèrement suivant les auteurs, mais tous s'accordent à dire que l'hordéine est la protéine majeure et qu'elle représente 50 % environ des protéines du grain.

1.3.2. - Valeur nutritive du grain d'orge

La quantité élevée d'hordéine fait que le grain est pauvre en a.a. basiques essentiels, histidine et lysine, et lui donne une faible valeur nutritive (Eggum, 1970 dans Koie et *al.*, 1976 ; Cameron-Mills, 1980).

C'est la raison qui a poussé les agronomes à rechercher des mutants. Ceux-ci sont caractérisés par une faible quantité d'hordéines et une plus forte quantité d'albumines et globulines. Le résultat final sur le contenu en a.a. du grain est son enrichissement en histidine et particulièrement en lysine (Andersen et Koie, 1975). Aussi ces mutants sont-ils appelés mutants riches en lysine.

1.4. - Conclusion

Deux faits se dégagent de cette présentation des protéines de l'orge :

- leur très faible quantité dans le grain ; 9 à 13 % de la matière sèche,
- la moitié des protéines sont les hordéines, protéines de réserve du grain qui seront métabolisées par l'embryon lors de la germination du grain ; ces protéines ont en commun d'être solubles dans l'alcool, propriété que mettent en exergue Shewry et Tatham (1990) en conclusion de leur analyse.

Nous allons maintenant présenter en détail la structure des hordéines et décrire leur site cytotologique, les corps protéiques.

2 - STRUCTURE ET LOCALISATION CYTOLOGIQUE DES HORDEINES

Par leur P.M. et leur composition en a.a., les hordéines ont été subdivisées en plusieurs types qui eux-même apparaissent sur les profils électrophorétiques composites, formés de sous-unités polypeptidiques.

2.1. - Les types d'hordéines

L'appellation des différents types d'hordéines et l'attribution des symboles de leur gène suit l'ordre historique de leur découverte que nous jugeons utile de décrire au départ.

2.1.1. - Nomenclature des hordéines

Bishop (1923, dans Shewry et Mifflin, 1983) propose une extraction standard de l'hordéine avec l'éthanol aqueux à 70 %, chaud, et il constate qu'en ajoutant au solvant du bisulfite la quantité d'hordéine extraite est plus importante. S'inspirant de ce résultat, Lontie et Voets (1959, dans Shewry et Mifflin, 1983) réalisent deux extraits successifs, le premier appelé hordéine I dans le solvant alcoolique simple, le 2ème appelé hordéine II dans le solvant alcoolique additionné d'un réducteur, le 2 - mercaptoéthanol, à la concentration de 1 %. En électrophorèse sur gel d'amidon, l'hordéine I est à P.M. plus élevé que l'hordéine II. Intervient l'utilisation des gels de polyacrylamide avec le dodécyl-sulfate de sodium (Laemmli, 1970) (en abrégé SDS-PAGE, "Sodium Dodecyl Sulfate - Polyacrylamide Gel Electrophoresis" ; nous préférons utiliser l'abréviation anglaise, seule connue dans les publications). Cette technique électrophorétique permet une meilleure séparation des polypeptides. Koie et *al.* (1976) l'exploitent sur les hordéines et ils séparent trois groupes de polypeptides qu'ils appellent dans l'ordre de mobilité décroissante A, B et C. L'hordéine A, la plus mobile, constitue un nouveau type, l'hordéine B est l'hordéine II, l'hordéine C, l'hordéine I. Cette nouvelle appellation s'est progressivement imposée. En affinant la technique d'extraction, une quatrième hordéine est isolée, appelée hordéine D et à P.M. le plus élevé (Shewry et *al.*, 1978, dans Shewry et Mifflin, 1983). Un tableau synthétique des propriétés chimiques (avec référence aux auteurs) des quatre hordéines est donné dans Shewry et Mifflin, 1982.

Enfin, en 1985, Shewry et *al.* (1985 b) isolent un 5ème type d'hordéine sur un mutant riche en lysine appelé Riso 56 (issu de la variété Carlsberg II, Doll, 1980). Les auteurs appellent cette 5ème hordéine "hordéine de type γ ", parce qu'ils constatent que sa séquence terminale-N en a.a. est très proche de celle de la gliadine γ et sécaline γ , prolamines respectivement du blé et du seigle. Cameron-Mills et Brandt (1988) confirment cette analyse en séquençant un gène de cette hordéine qu'ils appellent de manière définitive hordéine γ .

Ces cinq types d'hordéines sont caractérisés par leur P.M. et leur composition en a.a. que nous allons décrire en suivant la classification de Shewry et Tatham (1990).

2.1.2. - Les hordéines A

Ce sont les hordéines au P.M. le plus bas, entre 12 et 16 kDa et elles représentent une faible fraction des hordéines totales, entre 1 et 2 %.

L'équipe de Salcedo a analysé de manière approfondie ce type d'hordéine et a montré (Salcedo et *al.*, 1980) que l'hordéine A est à la fois soluble dans l'alcool et dans une solution saline (NaCl, 0.5 M) et que la composition en a.a. tranche sur celle des autres hordéines par une plus faible proportion de proline et glutamine et une plus forte proportion de lysine ; en outre la cystéine est présente. Par une nouvelle procédure de séparation, elle montre l'année suivante (Aragoncillo et *al.*, 1981), que les hordéines A se séparent en deux fractions : la plus importante en quantité présente la composition en a.a., citée, ci-dessus, et elle a le nom d'hordéine A, la 2ème présente la composition en a.a. identique à l'hordéine B et elle est appelée hordéine à faible poids moléculaire. Cette dernière pourrait être une protéine de réserve et l'hordéine A *sensu stricto* une protéine structurale. Finalement à cause de l'incertitude sur sa fonction, Shewry et Tatham (1990) ne l'évoquent pas dans les hordéines.

2.1.3. - L'hordéine pauvre en soufre, l'hordéine C.

L'hordéine C forme 10 % de la fraction totale des hordéines. Elle est caractérisée par l'absence de cystéine. Le P.M. des sous-unités varie entre 55 et 75 kDa, mesuré en SDS-PAGE, ou 52 à 54 kDa, mesuré en équilibre de sédimentation. Les proportions des 3 a.a. les plus abondants, acide glutamique + glutamine / proline / phénylalanine, sont : 41/31/9 en nombre de molécules pour 100 molécules d'a.a. (mole %) (Shewry et *al.*, 1980c).

2.1.4. - Les hordéines riches en soufre : hordéines γ et hordéines B

Les hordéines riches en soufre forment 80 % de la fraction totale des hordéines et sont caractérisées par la présence de cystéines, environ 2 mole %. Deux résidus cystéine forment un pont disulfure intra - et/ou inter - moléculaire, donnant une structure pliée compacte à la molécule ou aggrégeant plusieurs molécules. L'addition d'un agent réducteur au solvant d'extraction coupe le pont disulfure et résoud la molécule en polypeptides individuels. Découvrant la structure moléculaire de ces hordéines, les auteurs ont compris rétrospectivement comment l'addition du réducteur au solvant d'extraction (travail de Lontie et Voets, 1959, paragraphe 2.1.1., p. 114) augmentait la quantité d'hordéine extraite. (Rechinger et *al.* 1993 b décrivent les conditions d'analyse des hordéines riches en soufre).

Les hordéines à cystéine sont de deux types : γ et B. Elles migrent dans le même intervalle en électrophorèse SDS - PAGE. Le P.M. des sous-unités se situe entre 35 et 46 kDa ; il est plus faible, mesuré en équilibre de sédimentation, entre 32 et 35 kDa (Shewry et *al.*, 1980 c). L'hordéine γ est isolée uniquement sur les mutants incapables de faire la synthèse des hordéines B, comme le mutant Riso 56, dont nous avons parlé ci-dessus, paragraphe 2.1.1. Chez ces mutants, l'absence d'hordéine B révèle la présence de l'hordéine γ . Il en découle que, sur les génotypes normaux, la composition en a.a. des deux hordéines est donnée globalement ; elle est la suivante pour les a.a. les plus abondants, acide glutamique + glutamine / proline / phénylalanine : 35/21/5 (mole %) (Shewry et *al.*, 1980 c).

2.1.5. - L'hordéine à poids moléculaire élevé, l'hordéine D

Cette hordéine pourrait aussi être considérée comme une hordéine à cystéine (1,7 mole %), mais on a préféré la traiter à part à cause de son P.M. élevé, environ 90 kDa, et sa composition originale en a.a. qui l'apparente aux gluténines à poids moléculaire élevé du blé : pourcentage élevé en acide glutamique et glutamine (28 mole %) et plus faible en proline (12,1 %). Elle contient aussi une quantité élevée de glycine (13,6 mole %) comparée à celle

de l'hordéine A (8,7 mole %), de l'hordéine B et γ (1,5 mole %) et de l'hordéine C (0,3 mole %) (Miflin *et al.*, 1982, dans Shewry et Miflin, 1983). L'hordéine D compte pour environ 2 % dans le total des hordéines.

2.1.6. - *Conclusion*

A cause de leur abondance dans la fraction totale des hordéines (90 %), les hordéines γ , B et C confèrent le caractère de prolamine aux hordéines par la prépondérance en proline, acide glutamique et glutamine. Comme nous le verrons plus loin, paragraphe 2.3, elles constituent les protéines de réserve. Le complément est apporté par les hordéines A dont une très faible quantité, appelée hordéine à poids moléculaire faible, a les caractères de l'hordéine B, et par l'hordéine D qui s'apparente aux gluténines au poids moléculaire élevé du blé. Les prolamines du grain d'orge forment donc un groupe de protéines variées.

2.2. - *Les sous-unités des hordéines*

A l'exception de l'hordéine D, chaque type d'hordéine est faite de sous unités polypeptidiques qui ont les caractères chimiques de l'unité, mais qui diffèrent par leur P.M. et donc par leur séquence en a.a. Nous abordons l'analyse des sous-unités sous deux aspects : - le nombre de sous-unités par type d'hordéine que nous qualifions de polymorphisme polypeptidique, - et les relations entre les sous-unités d'un type d'hordéine qui fait appel au concept d'homologie structurale.

2.2.1. - *Le nombre de sous-unités par type d'hordéine et par cultivar*

Nous traitons les hordéines dans l'ordre de leur polymorphisme croissant.

Les hordéines D

Parmi les 5 types d'hordéines, elle est l'hordéine représentée par une bande en SDS-PAGE qui peut prendre deux positions dans le cadre des cultivars analysés : l'une à 91 kDa chez le cv. Advance, et l'autre à 83 kDa chez le cv. Triple awned lemma. En isoélectrofocalisation, la bande se décompose en 3 taches contiguës au pI de 8 chez les deux cultivars (Blake *et al.*, 1982).

Les hordéines A

Les hordéines A sont composées de 4 sous-unités, à la même position chez les 34 cultivars analysés (dans Shewry et Miflin, 1983, la figure 6 à la p. 168). Leur présence chez tous les cv. conforte l'hypothèse développée au paragraphe 2.1.2 que ces hordéines sont des protéines structurales nécessaires à la vie de la cellule, de sorte la mutation est probablement létale, ce qui élimine toute variation entre cv. Cette absence de variation fait aussi que le déterminisme génétique de ces protéines ne nous est pas connu, et nous ne les évoquons plus dans la suite de ce chapitre.

Les hordéines B et C

Ce sont les hordéines vraiment polymorphes : plus de deux bandes par hordéine, et leur nombre et leur position varient entre cultivars. Il y a cependant quelques rares cultivars à 1 bande pour l'hordéine C. A la suite des premières prospections, où le polymorphisme n'était pas encore estimé à sa juste valeur, les auteurs (en particulier Shewry) ont qualifié les profils en tant que phénotypes et par des noms. Kreis *et al.* (1983) décrivent le matériel en utilisant cette nomenclature et nous reproduisons la liste des cv. avec leur phénotype dans le tableau 3.1, p. 117.

Tableau 3.1. : Exemple de phénotypes d'hordéines B et C de 11 cultivars (extrait avec modification de Kreis et al., 1983)

| types d'hordéine | Sundance et Julia | Jupiter | Igri et Malta | cultivars Keg et Dram | Golden promise et Iribet | Athos et Maris-mink | Carlsberg II |
|---------------------|----------------------|---------|------------------|-----------------------------|--------------------------------|------------------------|--------------|
| hordéine C | Pr | Ju | So | Ke | Pr | Ar | Pr |
| hordéine B | Ze | Ju | So | Ke | Pr | Ar | Ca |

Les cv. aux phénotypes standards sont :

Pr : Proctor ; Ar : Aramis ; Ze : Zephir ; Ju : Jupiter ; Ke : Keg ; Ca : Carlsberg II ; So : Sonja.

Shewry et al. (1980 a) ont exploité le polymorphisme pour identifier les cultivars d'orge pour leur qualité en malterie. Sur 28 cv., ils ont reconnu 8 profils pour les hordéines B, et 7 pour les hordéines C. Ils ont réuni les cv. aux mêmes profils pour les deux hordéines en groupe et ils ont isolé 11 groupes ; le nombre de cv. varie par groupe : un groupe comprend 6 cv. ; 2 groupes, 5 cv. ; 3 groupes, 3 cv. ; et 5 groupes, 1 cv. Linde-Laursen et Doll (1981) étendent leur prospection à 50 variétés : 8 bandes sont reconnues pour les hordéines C et 13 bandes pour les hordéines B ; ils isolent 21 profils électrophorétiques différents dont deux profils sont communs, l'un à 16, l'autre 13 cultivars. Plus récemment, Radovic et Rapa (1996) font un bilan sur 33 cultivars exploités dans l'ancienne Yougoslavie : pour les hordéines C, il y a 8 profils différents à 4 à 9 bandes, pour les hordéines B, 9 profils différents à 5 à 7 bandes ; 18 groupes de cv. sont distingués ; 1 groupe comprend 9 cv. ; 2 groupes, 3 cv. ; 3 groupes, 2 cv. ; et les 12 groupes restants, 1 cv. Cooke (1995) introduit les profils électrophorétiques des hordéines B et C dans les tests de stabilité, d'uniformité et de distinction des variétés pour la réglementation établie par l'Union internationale de protection des nouvelles variétés de plantes (UPOV), et il apporte les données d'une prospection la plus large réalisée jusqu'à ce jour : 706 variétés, en analysant par variété 10 grains en 2 prélèvements. Il obtient 22 profils pour les hordéines C et 26 pour les hordéines B. Le nombre de combinaisons C x B serait de $22 \times 26 = 572$, mais 105 seulement sont isolés (cette restriction illustre la liaison entre les deux gènes codant pour les deux protéines dont nous parlerons au paragraphe 3).

De l'ensemble de ces données obtenues en électrophorèse SDS-PAGE se dégage un caractère commun : le polymorphisme est plus important parmi les hordéines B que parmi les hordéines C. L'analyse en électrophorèse bidimensionnelle (E2D) illustre le même degré relatif du polymorphisme, mais à une échelle plus grande. Pour l'hordéine C, sur 6 cv. analysés, les profils en SDS-PAGE varient entre 1 à 4 bandes et en E2D, ces bandes se subdivisent au maximum en 34 taches dont 4 à 18 présentes dans chaque cv. (Shewry et al., 1985 a). Pour l'hordéine B, sur 8 cv., choisis pour leur origine différente, on compte 6 bandes avec une variation entre cultivars de 3 à 4, en SDS-PAGE, 47 taches avec une variation de 6 à 8 en E2D (Faulks et al., 1981). Les auteurs soulignent que ce polymorphisme plus important, décelé en E2D, reste encore sous-estimé, car les deux techniques ne permettent pas de déceler les différences introduites dans les chaînes d'a.a. par les résidus non chargés.

Il y a une variation supplémentaire dont les auteurs ne tiennent pas compte, mais qu'ils observent très bien, c'est l'intensité différentielle de la coloration des bandes, difficile à quantifier, mais elle traduit une activité de synthèse plus ou moins élevée pour des polypeptides déterminés.

Les hordéines γ

Les données ne concernent qu'un cultivar, le cv Carlsberg II, car le mutant qui permet d'observer le profil des hordéines γ n'est apparu que dans ce cultivar. Les hordéines γ

correspondent à trois sous-unités, appelées γ_1 , γ_2 , et γ_3 dans l'ordre croissant de mobilité. Leur P.M. est : γ_1 , 41 kDa ; γ_2 , 36 kDa ; γ_3 , 32 kDa (Rechinger et *al.*, 1993b).

2.2.2.- Les relations entre les sous-unités d'un type d'hordéines

La démonstration expérimentale des relations entre sous-unités d'une hordéine s'est faite suivant deux approches : on a montré soit l'identité des sous-unités pour deux caractères, leur composition en a.a. et leurs propriétés immunologiques, soit l'homologie dans les séquences en a.a. Comme les procédures d'analyse sont lourdes, elles ne sont pas systématiquement appliquées à toutes les hordéines.

2.2.2.1. - La composition en a.a. identique dans les sous-unités de l'hordéine C

L'analyse a été faite sur le cv Maris Mink (Shewry et *al.*, 1981). Les auteurs ont séparé en chromatographie sur cellulose en milieu chloroforme-méthanol (CM) trois fractions d'hordéine C (caractérisées par l'absence de cystéine), la première à P.M. de 58, la deuxième de 57 et la troisième de 54 kDa. Chaque fraction a montré la même composition en a.a. prépondérants : acide glutamique + glutamine : 38 à 39 %, proline : 30 à 32 %, et phénylalanine : 8 à 9 % (en mole %). Les valeurs sont pratiquement les mêmes que celles obtenues dans l'analyse globale des hordéines C données au paragraphe 2.1.3.

2.2.2.2. - Les anticorps communs aux sous-unités des hordéines riches en soufre

Rechinger et *al.* (1993 a) ont mis au point cinq anticorps monoclonaux. L'anticorps BI réagit avec l'ensemble des sous-unités de l'hordéine B, l'anticorps BII avec les sous-unités de la classe III de l'hordéine (voir plus loin le paragraphe 2.2.2.3., cartes peptidiques, 2^{ème} alinéa), l'anticorps BX avec les sous-unités de la classe I/II de l'hordéine B et les sous-unités γ_1 et γ_2 , enfin deux anticorps avec des hordéines γ spécifiques, l'anticorps X avec γ_1 et l'anticorps BC avec γ_3 (voir figure 3.2 p. 129). De cette distribution des épitopes des protéines se dégagent des relations de parentés entre sous-unités et aussi des spécificités de sous-unités : les sous-unités de l'hordéine B forment un groupe unitaire par l'épitope de l'anticorps BI, mais à l'intérieur de l'hordéine B, les sous-unités des classes I/II et classe III se distinguent par l'épitope de l'anticorps BII et BX ; les sous-unités γ_1 et γ_2 et les sous-unités B de la classe I/II partagent le même épitope, il y a des relations de parenté entre ces sous-unités dont se détachent les hordéines de la classe III et l'hordéine γ_3 (nous verrons plus loin, dans le paragraphe 2.3.2., avant dernier alinéa, p. 121, que cette dernière sous-unité joue un rôle spécifique dans le dépôt de l'hordéine dans les cellules de l'albumen).

2.2.2.3.- L'homologie entre séquences d'a.a. de sous-unités d'hordéines

Deux polypeptides à chaînes d'acides aminés différentes sont dits homologues lorsque aux mêmes positions dans les deux chaînes on trouve le même résidu. On a d'abord repéré la position de certains résidus à partir de l'action de clivage de substances à leur site. La taille en P.M. des produits de clivage, révélée en S.D.S-PAGE, aboutit à l'établissement de cartes peptidiques et de leur comparaison se dégagent des homologies restreintes à un résidu déterminé. La technique de séquençage des polypeptides fut ensuite mise au point et on a pu mesurer de manière exacte le degré d'homologie entre polypeptides.

Les cartes peptidiques

Sur les trois fractions d'hordéines C, décrites au paragraphe 2.2.2.1, p. 118 (Shewry et *al.*, 1981), les deux premières fractions ont montré des cartes identiques, différente de la carte de la troisième fraction par l'action de la trypsine et de la protéase du virus «Staphyllococcae V8. Le même résultat est obtenu avec les produits de clivage de la chymotrypsine séparés en électrophorèse lacta-PAGE. Il y a donc homologie entre la fraction 1 et 2 pour les résidus touchés par ces substances.

Faulks et *al.* (1981) ont traité les 47 polypeptides, obtenus en E2D sur 8 cv (décrits à l'avant-dernier alinéa du paragraphe ci dessus 2.2.1, p. 117) par le bromure de cyanogène (CNBr) qui atteint le résidu méthionine. Les profils en SDS-PAGE de ces produits de clivage ont été réunis en trois classes caractérisées par le nombre de bandes à faible P.M. : classe I à 1 à 3 bandes, classe II à 4 bandes, et classe III à 5 bandes. Ce résultat indique que l'homologie par la position des résidus méthionine dans les chaînes d'a.a. est très faible. Il se comprendra lorsque nous connaîtrons la séquence totale des protéines. La classification en 3 classes de polypeptides prendra également une signification génétique (paragraphe 3.4.1, p. 126) et dont nous avons déjà vu un aspect dans les propriétés immunologiques des hordéines B.

Les polypeptides séquencés

L'équipe d'Autran (1979) a été, à notre connaissance, la première à mettre en évidence l'homologie entre les prolamines des céréales en se basant sur leur séquence terminale N. Les progrès, réalisés dans ce domaine sur 20 ans de recherches, sont bien résumés par Shewry et *al.* (1990).

L'homologie entre les polypeptides des hordéines C est remarquable. La séquence terminale N faite de 12 a.a. est identique dans toutes les sous-unités ; la séquence terminale C de 6 a.a. est propre à chaque sous-unité. Ces deux séquences flanquent un domaine répétitif de 400 résidus principalement composé de l'octopeptide suivant : Pro-Gln-Gln-Pro-Phe-Pro-Gln-Gln qui traduit en nombre de molécules, se résoud en 4 Gln, 3 Pro, 1 Phe. Cette proportion, transcrite en mole %, 40 Gln, 30 Pro et 10 Phe, correspond bien à celle obtenue en analyse chimique et décrite aux paragraphes ci-dessus 2.1.3, p. 115 et 2.2.2.1, p. 118. Ces données de séquençage ont été acquises par Enstwistle (1981) par déduction de la séquence nucléotidique de DNA génomique.

Les sous-unités des hordéines B présentent entre elles une homologie moins étendue. Elles sont faites de 250 à 300 résidus. La séquence terminale N est faite de résidus proline, et la séquence terminale C, de cystéines ; le domaine répétitif est varié, et cette variation est fonction de la classe des sous-unités définie sur la carte peptidique du bromure de cyanogène, (ce paragraphe, cartes peptidiques, 2^{ème} alinéa, ci-dessus) : celles de la classe I et II présentent entre elles des résidus substitués ou insérés ou délétés, aboutissant à une homologie assez élevée ; celles de la classe III, présentent un modelage différent de tout le secteur répétitif, et les deux séquences terminales sont différentes de celles des classes I et II (Kreis et *al.*, 1983). Ainsi se justifie l'homologie très faible révélée par le résidu méthionine (voir ce paragraphe, cartes peptidiques 2^{ème} alinéa, ci-dessus) et les propriétés immunologiques distinctes des sous-unités des classes I/II et III (paragraphe 2.2.2.2. p. 118).

Nous connaissons les 3 sous-unités γ du cv. Carlsberg II par son mutant M56 (dernier alinéa du paragraphe 2.2.1.p. 117). Les sous unités γ_1 et γ_2 ont la même séquence terminale N faite de 12 résidus ; le domaine répétitif connu, allant du 13^{ème} au 35^{ème} résidu, est identique. La sous-unité γ_3 est très différente : la séquence N terminale est faite de 17 résidus et 6 résidus sont homologues avec γ_1 et γ_2 , et sur les 23 résidus connus du domaine répétitif, 5 sont homologues avec γ_1 et γ_2 (Shewry et *al.*, 1985 b). Ainsi se confirme la distinction, faite par les réactions immunologiques (Rechinger et *al.*, 1993 a) entre les sous-unités γ_1 et γ_2 d'une part, et la sous-unité γ_3 .

2.2.3. - *Conclusion*

La grande diversité des sous-unités d'hordéines C et B entre cultivars est compensée par l'homologie d'un degré moyen entre les sous-unités B et d'un degré élevé entre les sous-unités C. La variation dans le P.M. ne traduit donc pas de modifications importantes dans la structure de la molécule. L'albumen met à la disposition de l'embryon une batterie de protéines finement diversifiée à l'intérieur de deux structures moléculaires, les hordéines B et C, dont nous allons décrire la localisation cytologique dans le grain.

2.3.- *Cytologie des hordéines*

Une protéine est considérée comme protéine de réserve, mise à la disposition de l'embryon lors de sa germination, quand elle répond, selon Jonassen et *al.*, 1981, aux trois critères suivants : (i) elle est synthétisée au niveau du réticulum endoplasmique, (ii) sa quantité augmente dans le grain quand l'engrais azoté est fourni à la plante, et (iii) elle est déposée dans les vacuoles. L'objet de cette analyse cytologique est de démontrer qu'elle s'applique aux hordéines.

2.3.1.- *Les hordéines dans les cellules de l'albumen : le grain d'aleurone*

Cameron-Mills et Wettstein (1980) ont réalisé une analyse histologique et ultrastructurale exhaustive du grain d'orge. Celui-ci est constitué du péricarpe (le fruit proprement dit), du tégument, fait de deux couches cellulaires, d'une strate unicellulaire provenant du nucelle de l'ovule, et de l'albumen qui remplit tout le grain. Dans la région basale du grain, l'albumen enveloppe l'embryon formé de l'axe hypocotyle-radicule et du scutellum (la feuille de l'embryon). L'albumen est limité en périphérie par trois couches de cellules nettement cubiques appelées couches à aleurone. Les cellules contiennent, comme organites, des mitochondries, des oléosomes (globules lipidiques non limités par une membrane) et des corpuscules sphériques très réfringents en microscopie optique, appelés grains d'aleurones ou corps protéiques (de « protein bodies »). Sous les couches à aleurone se trouve l'assise sous-aleurone à cellules très chargées de petits grains d'aleurone. Puis vient l'essentiel du tissu de l'albumen fait de cellules prismatiques à polygonaux. Les substances de réserve de ces cellules sont les carbohydrates contenus dans les amyloplastés. Mais les trois assises périphériques (sous l'assise sous aleurone) contiennent en plus les grains d'aleurone. Comme les auteurs arrêtent leurs observations cytologiques à une dizaine de couches périphériques de l'albumen, leur description est incomplète. Shewry et Mifflin (1983) rapportent des observations d'autres auteurs qui considèrent que tout l'albumen est chargé de grains d'aleurone. C'est la constatation que fait Duffus et *al.* (1992), s'appuyant sur d'excellentes images : les protéines de réserve forment une matrice enveloppant les amyloplastés. Dans le grain en développement, ces protéines sont limitées par une membrane qui disparaît dans le grain mature. L'albumen amylicé contient donc des grains d'aleurone.

S'ajoutent en tant que réserves protéiques celles des cellules épithéliales du scutellum (Shewry et Mifflin, 1983).

Le grain d'aleurone est une vacuole dans laquelle la protéine s'est déposée ; son diamètre varie entre 10 et 30 μm . Il existe aussi des grains d'aleurone sans membrane cytoplasmique, à la manière des oléosomes, beaucoup plus petits, entre 0.5 et 1.0 μm de diamètre. La morphologie du grain est différente dans les couches à aleurone et dans les couches cellulaires sous-jacentes. Le premier type morphologique est décrit dans Bewley et Black (1985) d'après les données de Jacobsen et *al.* (1971). Nous présentons les données concernant le deuxième type, car c'est sur celui-ci qu'ont été faites les analyses chimiques et cellulaires *in situ* (Cameron-Mills et Wettstein, 1980).

Vingt jours après la pollinisation, la vacuole - grain d'aleurone -, d'environ 10 μm de diamètre contient une matrice de texture fibrillaire, plusieurs globules transparents ou peu denses (en microscopie électronique), et des globules plus petits denses. L'espace, laissé libre dans la vacuole présente des membranes formant vésicules. Dans le grain à maturité, les globules peu denses ont fusionné et forment un contenu homogène d'où se détachent quelques globules plus denses ; la matrice et les vésicules ont disparu. Les auteurs interprètent ces transformations comme une déshydratation progressive des précurseurs des hordéines représentés par la matrice fibrillaire.

Cameron-Mills (1980) a réussi à isoler les grains d'aleurone et à extraire de la suspension cellulaire dans un solvant alcoolique (propane-2-ol à 60 %, v/v) les protéines qui, passées sur gradient de densité Percoll, ont montré exactement le profil électrophorétique en SDS-PAGE des hordéines B, C et D. Treize ans plus tard, l'équipe, dirigée par le même auteur (Rechinger et al., 1993 b), utilisant le marquage *in situ* par les anticorps monoclonaux spécifiques, montre que les hordéines B et C composent l'intérieur de la substance peu dense et les hordéines γ_1 et γ_2 , la périphérie ; la sous-unité γ_3 n'est pas relevée (l'hordéine D non plus, car l'anticorps D n'est pas disponible).

En outre, on sait par Rogers et al. (1985 dans Rogers et al., 1996) que parmi les grains d'aleurone de l'albumen se trouvent des grains d'aleurine (barley aleurain). Le grain d'aleurain est une vacuole séquestrant des protéases à cystéine apparentées à la cathapsine des Mammifères. Le contenu de la vacuole est peu dense et homogène. Par leur morphologie les deux types de grains se confondent totalement. Seuls des anticorps monoclonaux spécifiques permettent de les distinguer (Rogers et al., 1996).

2.3.2. - Construction du grain d'aleurone

La construction du grain d'aleurone se fait en quatre étapes : synthèse de la protéine, transport, ciblage du lieu de dépôt et dépôt dans une vacuole.

La synthèse des hordéines se fait à partir d'ARN messagers liés aux polysomes du réticulum endoplasmique. En effet, des poly A+ARN, extraits de l'albumen en développement, synthétisent *in vitro*, dans un milieu à germe de blé (Mathews et Mifflin, 1980), les protéines B et C (Kreis et al., 1983). La traduction de la protéine commence par une séquence extraprotéine appelée le signal peptidique. Celui-ci est fait de 19 résidus pour une hordéine B (Brandt et al., 1985) et pour une hordéine γ (Cameron-Mills et Brandt, 1988). Il est la marque moléculaire de la fonction réserve de la protéine. Il permet à la chaîne peptidique naissante de pénétrer dans l'espace endoplasmique et il s'en sépare grâce à un site de clivage au 19^{ème} résidu. La protéine s'accumule sur place et le réticulum endoplasmique s'enfle en une vésicule.

L'hordéine est ensuite transportée dans une vacuole. Se pose le problème du milieu de transport. Il ne peut être que le milieu aqueux cytoplasmique ou endoplasmique. Or il est difficile de concevoir ce milieu pour une protéine hydrophobe. Les auteurs pensent que cet écueil est contourné par la très faible concentration en hordéine de la solution cellulaire. Les grains d'aleurone sans membrane pourraient constituer un site intermédiaire dans le transport. La vacuole d'accueil de l'hordéine est ciblée par une protéine, l'hordéine γ_3 . En effet, chez le mutant Nevsky, incapable de faire la synthèse de cette sous-unité, l'hordéine demeure au niveau du réticulum endoplasmique (Rechinger et al., 1993 b).

L'hordéine peut finalement s'accumuler dans la vacuole à cause de sa nature hydrophobe. Cette propriété physique permet la précipitation de l'hordéine. La vacuole protège les hordéines contre les protéases cellulaires ; elle est considérée comme une enveloppe de séquestration des hordéines.

2.3.3.- *Conclusion*

Les grains d'aleurone contenant les hordéines se trouvent dans l'albumen amylicé. Mais les réserves les plus importantes de l'albumen sont les réserves carbohydatées.

Par leur analyse chimique et leur analyse cytologique *in situ*, il est démontré que les hordéines sont les protéines de réserve ; par des techniques de génétique moléculaire, il est démontré qu'elles sont synthétisées au niveau du réticulum endoplasmique.

La sous-unité γ_3 se détache des autres sous-unités γ et de celles des hordéines B et C, et de l'hordéine D par son rôle de protéine-cible pour le dépôt dans les vacuoles.

2.4. - *Conclusion sur les hordéines*

Le fait remarquable de cette analyse chimique et cytologique des hordéines est le polymorphisme des sous-unités des hordéines B et C ; retenons-en les valeurs suivantes : en électrophorèse 2D, sur 6 cv, 34 sous-unités C (Shewry et *al.*, 1985) et sur 8 cv, 47 sous-unités B (Faulks et *al.*, 1981). S'y ajoute la variation quantitative par sous-unité entre cultivars. Mais cette diversité des sous-unités est compensée par leur homologie structurale. Comment une telle diversité tamponnée par des structures moléculaires apparentés peut - elle être gérée au niveau de l'information génétique ? C'est la question posée aux généticiens.

3 - LA GENETIQUE DES HORDEINES

Les données génétiques ont été acquises parallèlement aux données biochimiques que nous venons de présenter. Nous exposons d'abord les données de génétique formelle : la caractérisation des gènes des hordéines, leurs recombinaisons et leur cartographie. Puis nous présentons de manière résumée les données de génétique moléculaire qui démontrent que le locus des gènes d'hordéines est multigénique. Enfin nous citons les travaux portant sur les haploïdes doublés en référence aux hordéines.

3.1. - *Les gènes des hordéines*

La première constatation que font les auteurs est que le profil électrophorétique de chaque hordéine s'hérite globalement (toutes les sous-unités confondues). Le profil électrophorétique des F_1 est l'addition des deux profils parentaux par effet de codominance des allèles des deux parents. En F_2 , il y a ségrégation des 3 génotypes ; les deux parentaux et l'hétérozygote. Prenons l'exemple tirée d'une des premières publications sur la génétique des hordéines (Oram et *al.*, 1975). Les auteurs analysent la descendance des cv Bomi et Sultan. Le profil parental des hordéines B est appelé respectivement B et S. La F_2 est composée des phénotypes suivants avec leur fréquence : BBB : 17 ; BBS : 20 ; BSS : 25 ; et SSS : 13. La ségrégation des quatre phénotypes se fait suivant les proportions attendues 1/1/1/1 ($\chi^2[3]=4.09$; $P \leq 0.25$). Les deux phénotypes hétérozygotes, suite à la triploïdie de l'albumen, sont reconnus par la quantité plus élevée de substance dans les bandes spécifiques de B ou de S. Mais cette distinction quantitative visuelle est très difficile, de sorte que les auteurs ne tiennent souvent pas compte de l'effet dose des 3 allèles et considèrent un seul phénotype d'hétérozygote. Les allèles sont dénommés d'après le phénotype des cultivars. Dans le tableau 3.1, p. 117 la première colonne peut être intitulée allèles des hordéines C, puis B, et on a, par exemple pour les hordéines C, les allèles Pr, Ju, So, Ke et Ar. Comme le nombre des allèles est légèrement inférieur au grand nombre de cultivars analysés (plusieurs cultivars peuvent présenter des allèles identiques), ce nombre des allèles reste très élevé. Alors pour la clarté de l'exposé, les auteurs ont donné un symbole au locus du gène. Le gène de l'hordéine C est appelé *Hor 1*, celui de l'hordéine B, *Hor 2* par Doll et Brown (1979, dans Shewry et Mifflin, 1983) celui de l'hordéine D, *Hor 3* par Mifflin et Shewry en 1981 (dans Shewry et *al.*, 1983), et celui de

l'hordéine γ , *Hor 5* par Shewry et Parmar en 1987 (dans Shewry et *al.*, 1990). (Il existe un locus *Hor 4* dont le gène code l'enzyme de la synthèse d'un polypeptide B, distinct des polypeptides du gène *Hor 2*, et propre au cv Elgina et à ces descendances, Shewry et *al.*, 1988). Pour classer les loci *Hor*, les deux premiers auteurs, Doll et Brown se sont référés à l'appellation des hordéines C (hordéines I) et des hordéines B (hordéines II) (paragraphe 2.1.1, p. 114), puis les auteurs ont suivi l'ordre historique de caractérisation des gènes. L'équipe des généticiens russes, groupé autour de Sozinov, est partie sur d'autres symboles, *Hrd A* à *F* (*Hrd A* = *Hor 1*, *Hrd B* = *Hor 2*, *Hrd F* = *Hor 5* et *Hrd G* = *Hor 4*) pour les autres gènes *Hrd* la correspondance avec les gènes *Hor* est douteuse (Shewry et Mifflin, 1983). Cette écriture ne s'est pas imposée au niveau international.

Les loci *Hor 1*, *2* et *5* sont multialléliques, le locus *Hor 3* est biallélique, puisque, dans l'échantillon des cv analysés jusqu'à ce jour, il y a une seule bande par cultivar avec deux ou trois positions possibles sur les profils électrophorétiques, et que l'hétérozygote a deux bandes D (Blake et *al.*, 1982 ; paragraphe 2.2.1., les hordéines D, p 116) (Il en est de même pour le gène *Hor 4* avec cette différence que l'hétérozygote issu du cv. Elgina ou de cultivars descendant d'Elgina et de tout autre cultivar, est caractérisé par une seule bande).

Il y a donc un gène par type d'hordéine, et ce gène informe l'ensemble des sous-unités de l'hordéine.

3.2.- La recombinaison

3.2.1.- La recombinaison intergénique

Les phénotypes recombinés entre les hordéines B et C ont été facilement observés. Nous prenons l'exemple du matériel de Jensen et *al.* (1980). Ces auteurs ont simplifié les symboles des phénotypes en prenant un symbole à 2 lettres pour l'hordéine C et les mêmes lettres dans l'ordre inverse pour l'hordéine B. Les deux lignées parentales sont Iso 4R à l'allèle Al au locus *Hor 1*, et La au locus *Hor 2*, et Iso 1R à l'allèle Kw et Wk. Les génotypes parentaux et des génotypes sélectionnés dans la F_3 sont portés dans le tableau 3.2, p. 124.

Ayant maîtrisé la reconnaissance des phénotypes pour deux types d'hordéine, il était possible de déterminer les groupes de liaison des gènes des hordéines. Oram et *al.* en 1975 estiment le pourcentage de recombinaison entre un gène à site connu, le gène Mla de la résistance à l'oïdium (*Erysiphe graminis* f sp. *hordei*), situé sur le bras court du chromosome 5, et des allèles de l'hordéine B : ce pourcentage s'élève à 17.4 ± 2.8 %. Donc le locus *Hor 2* est situé sur le bras court du chromosome 5.

Les relations entre les gènes *Hor 1*, *Hor 2* et des gènes de la résistance à l'oïdium sont définies en 1980 par deux équipes de chercheurs : Shewry et *al.* (1980 b) déterminent le % de recombinaison entre les loci *Hor 1* et *Hor 2* à $16,1 \pm 2,6$ %, et Jensen et *al.* (1980) à $7,4 \pm 0,9$ %. Cette dernière équipe précise en plus que le locus *Hor 1* est proche du centromère et le locus *Hor 2* en position distale sur le bras court. Cependant l'imprécision sur la distance entre les deux loci subsiste. Shewry et Mifflin (1982) font un état des estimations des différents auteurs, l'intervalle de variation des % de recombinaison va de $4,58 \pm 1,83$ à $17,9 \pm 7,2$, et une estimation plus récente, par Netsvetaev et *al.* (1985) va jusqu'à $19,56 \pm 3,05$ %. Cette discordance dans les données est peut-être due au fait que les estimations sont faites sur des descendances de couples de cultivars différents. Jensen J., qui publie des mises au point régulières de la carte du chromosome 5, estime la distance entre les loci *Hor 1* et *Hor 2* à 7 cM en 1981 (dans Shewry et Mifflin, 1983) et à 13 cM en 1993 (dans Pedersen et Linde-Laursen, 1995).

Le groupe de liaison du locus *Hor 3* a été défini par deux équipes : Blake et *al.* (1982) exploitent la technique de 3 points avec les loci *Hor 1* et *Hor 2* et estiment la distance entre

Tableau 3.2. : Génotypes des parents 1 (Iso 4R) et 2 (Iso 1R) et génotypes sélectionnés de la F₃ reconnaissables aux profils électrophorétiques en SDS-PAGE pour les loci *Hor* 1 et *Hor* 2 (extrait de Jensen et al., 1980)

| Allèles aux loci | génotypes des parents | | génotypes en F ₃ | | | | |
|------------------------|--------------------------|----|-----------------------------|----|---|----|----------------------------------|
| | | | génotypes parentaux | | génotypes hétérozygotes non recombinés | | génotype homozygote recombiné |
| | 1 | 2 | 1 | 2 | | | |
| <i>Hor</i> 1 | Al | Kw | Al | Kw | Al | Al | Kw |
| | Al | Kw | Al | Kw | Kw | Al | Kw |
| | Al | Kw | Al | Kw | Kw | Kw | Kw |
| <i>Hor</i> 2 | La | Wk | La | Wk | La | La | La |
| | La | Wk | La | Wk | Wk | La | La |
| | La | Wk | La | Wk | Wk | Wk | La |

Hor 1 et *Hor* 3 à 29,5 cM, ce qui positionne le locus *Hor* 3 sur le bras long du chromosome 5 ; Shewry et al. (1983) utilisent un marqueur intermédiaire *fs* 2 proche du centromère et estiment la distance *Hor* 1 - *Hor* 3 à 64,84 cM. Il est probable que cette dernière mesure est plus proche de la réalité.

Netsvetaev et Sozinov (1982, dans Shewry et Miflin, 1983) définissent le groupe de liaison du locus *Hor* 5 (sous la dénomination *Hrd* F) ; c'est le même que celui des autres gènes *Hor*, et il est en position plus distale que *Hor* 2, distant de lui de 0,3 cM. En définitive, tous les gènes des hordéines connues sont caractérisés et localisés.

3.2.2.- *La recombinaison intragénique*

Du fait qu'un gène détermine la synthèse de plusieurs polypeptides, on s'attendait a priori à découvrir des recombinaisons intragéniques. Ce fut la préoccupation de l'équipe de Shewry dans les années 80 jusqu'au jour où elle a enfin isolé un phénotype recombiné intragénique au locus *Hor* 2 (Shewry et al., 1990). Une lignée F₃ issu de croisement des lignées Bomi x P 12/3 a montré en électrophorèse 2 D que les polypeptides B de la classe I et II étaient de phénotype Bomi et ceux de la classe III, de phénotype P 12/3 (la figure 3 de la publication est très claire et remarquable). La démonstration de cette recombinaison intragénique, faite par la méthode de génétique formelle, confirme l'existence de deux sous-loci au locus *Hor* 2, révélée antérieurement par des analyses moléculaires, un sous-locus informant la synthèse des polypeptides de la classe I et II, et un autre informant celle de la classe III (Kreis et al., 1983, et paragraphe 3.4.1., 2^{ème} alinéa, p. 126). Shewry et al. (1990) ont tenté de définir la position des deux sous-loci par rapport au locus presque contigu *Hor* 5. Comme une analyse statistique de la recombinaison entre *Hor* 2 et *Hor* 5 est difficilement réalisable à cause de la rareté de la recombinaison (distance 0,3 cM), ils ont exploité des marqueurs moléculaires. En effet la sonde hordéine γ (un gène du locus *Hor* 5) donne des profils d'hybridation différents avec l'ADNc de Bomi et de P 12/3. Or dans la lignée recombinée le profil d'hybridation est de type P 12/3 ; donc l'allèle *Hor* 5 dans cette lignée vient de P 12/3. Comme le phénotype des hordéines B classe III est celui de la lignée P 12/3, et en admettant l'absence de recombinaison entre *Hor* 2 et *Hor* 5, le sous-locus des hordéines B de classe III doit être du côté de *Hor* 5.

3.3. - *La cartographie génétique*

Les données sur les recombinaisons ont permis de dresser la carte chromosomique de tous les gènes *Hor* et des techniques de génétique moléculaire appliquées à l'observation *in situ* des chromosomes ont donné accès à la carte physique des loci *Hor* 1 et *Hor* 2.

3.3.1.- Carte chromosomique du chromosome 5 pour les gènes Hor.

Nous reproduisons, dans la figure 3.1, la carte chromosomique du chromosome 5 pour les gènes *Hor* publiée par Shewry et al. (1990), reprise également par Rechinger et al. (1993 a).

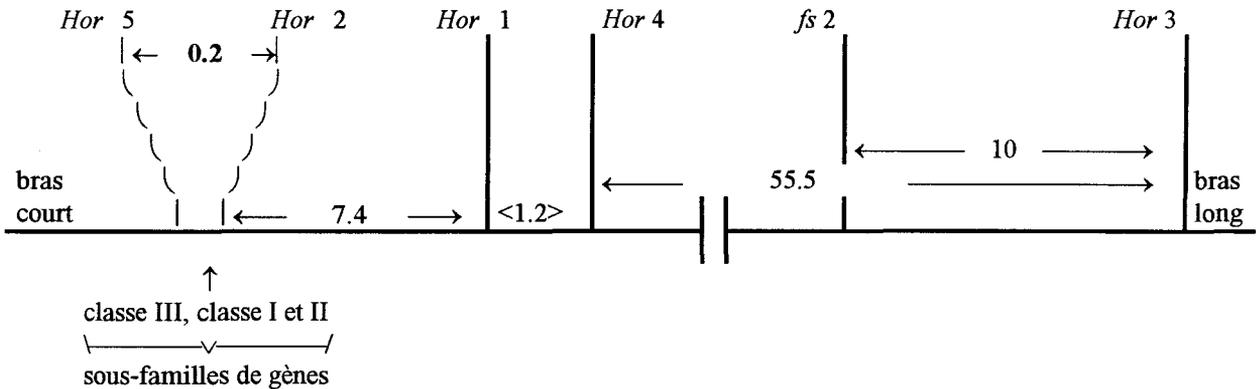


Figure 3.1 : Site des loci des gènes de l'hordéine (*Hor* 1 à *Hor* 5) sur le chromosome 5 de l'orge. Le centromère est probablement proche de *fs* 2. Les distances en cM sont extraites de Jensen, 1987 (selon Shewry et al., 1990).

3.3.2.- Carte physique du chromosome 5 pour les gènes *Hor* 2 et *Hor* 1.

La première localisation physique du locus *Hor* 2 a été réalisée par l'équipe Herrmann R.G. (Lehfer et al., 1993) : les chromosomes des méristèmes racinaires observés en métaphase de mitose sont hybridés avec des sondes d'ADNc du gène *Hor* 2 qui sont préalablement marquées par la biotine ou des substances voisines grâce à la technique de « nick » translation (marquage d'ADN par des sites réparés (traduction) par l'ADN polymérase avec des nucléotides marqués, ces sites étant des « trous » réalisés dans un brin d'ADN par une attaque de nucléase). La position du site d'hybridation de la sonde avec le locus du gène est ensuite révélée par un anticorps spécifique de la biotine rendu fluorescent (technique de l'hybridation in situ fluorescente ; FISH, sigle en anglais). Deux taches fluorescentes nettes (les deux chromatides sœurs) sont visibles à l'extrémité du bras court des deux chromosomes 5 homologues. Pour le bras divisé en 100 parties égales, le locus *Hor* 2 est à 91 unités du centromère, et la réponse du signal varie entre 20 à 60 % des cellules analysées. L'équipe de Linde-Laursen (auteur qui a analysé de manière approfondie, dans les années 70, le caryotype de l'orge par la technique du banding) localise par la même technique FISH les loci *Hor* 2 et *Hor* 1 en référence à un locus, marqueur télomérique, révélé par la sonde pAt T4 d'*Arabidopsis thaliana* (Pedersen et Linde-Laursen, 1995). La limite du bras court 5 est bien marquée par deux fines taches télomériques, et elles sont adjacentes aux deux taches du locus *Hor* 2 ; plus vers l'intérieur du bras apparaissent les deux taches du locus *Hor* 1. Les distances en % du bras (à la manière de Lehfer et al., 1993, décrite ci-dessus) sont les suivantes : *Hor* 1/ 89,1 ± 3,0 % ; *Hor* 2 : 93,9 ± 2,7 % ; d'où la distance *Hor* 1, *Hor* 2 : 4,7 ± 2,5 %. En outre sur certaines préparations, la tache fluorescente du locus *Hor* 2 apparaît comme incisée, ce qui pourrait traduire la subdivision du locus *Hor* 2 en deux sous-loci (paragraphe 3.2.2, p. 124). Comme les deux équipes dont nous venons de rapporter les travaux montrent que la technique FISH est bien en point, Lapitan et al. (1997) l'utilisent pour identifier les clones de DNA génomique. Ces auteurs construisent une banque de clones d'*Escherichia coli* avec des inscrits d'ADN génomique. Cette banque appelé chromosome artificiel bactérien (BAC, en sigle anglais) de l'orge comprend actuellement 20 % du génome de l'orge. Deux clones,

parmi les clones disponibles, se sont révélés par leur position d'hybridation *in situ* comme étant vecteurs de gènes du locus *Hor 2*.

La carte physique du chromosome 5 apporte donc confirmation et cohérence aux données de génétique formelle. Il reste à expliquer la structure originale des gènes des hordéines, accessible par les techniques de génétique moléculaire.

3.4.- La structure multigénique des loci *Hor 1, 2 et 5*

Dans la limite de l'échantillon des cultivars connus à ce jour pour leur composition en hordéines, les gènes *Hor 3* (pour les hordéines D) et *Hor 4* (pour un polypeptide B du cv. Elgina) sont bi-alléliques et se comportent comme un gène classique : un gène, un polypeptide. Le problème de structure de gène se pose pour les gènes *Hor 1* (hordéines C), *Hor 2* (hordéines B) et *Hor 5* (hordéines γ) qui contrôlent chacun la synthèse de plusieurs polypeptides. L'individualité de ces gènes est bien démontrée (paragraphe 3.1, p. 122) : par la saisie des phénotypes sur les profils électrophorétiques et par leur transmission, ils apparaissent comme des unités insécables, avec la restriction à appliquer à la structure du gène *Hor 2* où cette propriété est dévolue aux deux sous-loci.

Pourtant, a priori, les généticiens ont pensé que les gènes devraient avoir une structure composite. L'idée - guide fut alors de définir à l'intérieur du locus un ou plusieurs gènes, appelés membres ou copies du gène ou plus simplement un gène *Hor 1* par exemple, et d'estimer le nombre de gènes au locus. Une première approche de ce thème de recherche a été suggérée par l'état homologue des polypeptides informés par les membres d'un gène : de même qu'il y a homologie dans la séquence a.a., de même il devrait avoir homologie entre les membres d'un gène dans la séquence des nucléotides. Le caractère de gènes homologues est traduit par le concept « famille de gènes » (Creighton, 1993) ou famille multigénique, terme le plus souvent utilisé par les auteurs travaillant sur l'orge (le préfixe multi nous apparaît redondant avec famille, les auteurs ont voulu probablement insister sur le grand nombre de membres d'un gène).

Dans les travaux, initiés dans les années 80, la mise en évidence de familles multigéniques s'est faite suivant trois voies : 1. isolement des ARNm et de leurs produits de traduction, 2. séquençage d'un ou plusieurs membres d'un gène et taille du locus entier, 3. analyse du gène par les caractères RFLP (polymorphisme des longueurs des fragments de restriction) et PCR (amplification par réaction en chaîne de polymérase).

3.4.1.- Les ARN messagers et leurs produits de traduction

Le travail de Forde et *al.* (1981) nous apparaît comme le premier apport fondamental à la génétique moléculaire des hordéines. Sur le cultivar Sundance, 278 clones à insert d'ADNc sont obtenus. L'ADNc est construit à partir d'ARNm poly A⁺ liés aux polysomes des membranes cellulaires et extraits de l'albumen. Les auteurs ont ensuite sélectionné les ADNc, informant la synthèse des hordéines B, en procédant aux trois opérations suivantes : hybridation avec des ARNm extraits de l'albumen, élution des ARNm hybridés et traduction *in vitro* dans un système à germe de blé, mis au point par Mathews et Miflin (1980). Les polypeptides synthétisés sont ensuite analysés en électrophorèse SDS-PAGE. Les auteurs ont ainsi caractérisé 54 clones d'ADNc de l'hordéine B, et ils justifient l'existence de famille de gènes au locus *Hor 2* par ce nombre élevé de clones.

La même équipe (Kreis et *al.*, 1983) applique la même technique de reconnaissance des ADNc à 6 autres cultivars (portés dans le tableau 3.1, p. 117) ayant des allèles *Hor 2* différents, et précise la classe d'hordéines B synthétisées. Un clone d'ADNc (pc 13) est reconnu comme informant la synthèse des polypeptides de classe I, II et III, des clones (pc 35, pc 174 et pc 290) celle de classes I et II, et d'autres clones (pc 17 et pc 179) celle de classes

III. Ainsi sont distinguées deux sous familles de gènes à l'intérieur de la famille des gènes des hordéines B dont les produits de synthèse avaient été distingués antérieurement en cartographie peptidique (paragraphe 2.2.2.3., cartes peptidiques, p. 119).

3.4.2. - Taille et structure des gènes *Hor 1*, *Hor 2* et *Hor 3*

Le caractère commun aux gènes des hordéines est qu'ils sont dépourvus d'introns.

Le locus *Hor 1*

Pour estimer la taille de ce locus, Siedler et Graner (1991) ont utilisés des endonucléases qui reconnaissent les bi- ou tri-nucléotides, CpG ou CpXpG, et qui généralement réalisent des coupures dans les régions flanquant les gènes. Sur deux cultivars (Igri et Franka), ils ont isolé un fragment de 135 kb qui représente le locus *Hor 1*.

Entwistle (1988) réalise le séquençage d'un fragment Hind III de 2 kb, reconnu par une sonde spécifique de l'hordéine C, et qui correspond à un gène complet (et à la 1/67^{ème} portion du locus *Hor 1* mesuré ci-dessus). Ce gène est fait exactement de 2065 pb ; la séquence amont 5' non codante, de 428 pb ; la séquence codante, de 1044 pb ; et la séquence aval 3' non codante, de 593 pb (la séquence codante contient un codon stop (TAG) à la position 481 . Le polypeptide n'est donc pas exprimé).

Un travail ultérieur d'une équipe russe (Saianova et al., 1994 ; l'article est analysé sur le résumé anglais) apporte des données plus importantes : les régions codantes de gènes sont estimées à 360 et 1000 pb dans le clone lambda CH 3, à 500 pb dans le clone lambda CH 1, et 600 pb dans le clone lambda CH 5. Ces différences de taille entre gènes sont à l'origine du polymorphisme de taille des hordéines. Dernier fait remarquable à relever : les deux gènes du clone CH 3 sont côte à côte ; c'est la 1^{ère} donnée moléculaire qui montre que le locus *Hor 1* est fait de gènes adjacents.

Le locus *Hor 2*

Ce locus est fait de deux fragments successifs, reconnus par des sondes *Hor 2* et séparé par un fragment de nature inconnue ; l'un mesure 160 kpb et l'autre 200 kpb (Sorensen, 1989 dans Rechinger et al., 1993 a). C'est la taille des deux subloci du locus *Hor 2*.

Brandt et al. (1985) ont séquencé trois gènes sur le cv. Carlsberg II. Le gène considéré comme gène de référence pour les auteurs est composé de 1836 pb qui se répartissent de la manière suivante : 873 pb pour la région codante avec un signal peptidique qui aboutit à la synthèse de 19 a.a. ; 550 pb pour la séquence non-codante terminale 5' ; 413 pb pour la séquence non-codante terminale 3'. Les autres gènes diffèrent de ce gène par des délétions ou des insertions dans la séquence non-codante aval. On a ici l'exemple de 3 gènes issues de duplication, suivie de mutations ponctuelles, et les 3 polypeptides sont identiques, ce qui se traduit en électrophorèse par une bande unique intense.

Le locus *Hor 3*

A notre connaissance, la séquence nucléotidique du locus *Hor 3* reste encore à déterminer. Mais les mesures d'homologie de la séquence non codante 5' du gène de la globuline α du riz (faite de 1007 pb) avec celle de la gluténine à haut poids moléculaire du blé et de l'hordéine D ont été faites par Nakase et al. (1996) à partir de données disponibles dans les banques de gènes. La séquence non-codante 5' de la globuline α présente 55 % d'identité avec celle de la gluténine et 58 % avec celle de l'hordéine D. Sont ainsi mises en évidence la parenté entre gènes d'espèces de protéines de réserve différentes, et secondairement la parenté

entre gènes de gluténine et d'hordéine D, que l'on connaissait déjà au niveau des protéines par leur P.M. et leur composition en a.a. (paragraphe 2.1.5, p. 115).

De cet aperçu, il ressort que les données actuelles sur les gènes séquencés restent encore assez ponctuelles : on connaît 2 à 4 membres par gène, mais la famille de gènes dans son intégralité reste à décrire. L'analyse par RFLP et PCR nous apporteront une vue plus globale sur le locus.

3.4.3. - Le gène en analyse RFLP et PCR

Locus *Hor 1*

Sur les mêmes six cultivars, analysés pour leur polymorphisme polypeptidique (paragraphe 2.2.2.3., polypeptides séquencés, 2^{ème} alinéa, p. 119), Shewry et *al.* (1985 a) ont soumis le DNA génomique au traitement RFLP. Par l'action de Hind III, on obtient sur les profils électrophorétiques 6 à 10 fragments par cultivar ; au total, sur les six cultivars, 22 fragments allant de 2 à 20 kb. Un fragment à 2.4 kb est propre à tous les cultivars ; il pourrait contenir la séquence complète d'un membre du gène *Hor 1*, plus de courts segments des deux membres adjacents. Les fragments de plus petite et de plus grande taille révéleraient des variantes du membre commun. En outre, une forte intensité d'hybridation pour certains fragments laisse supposer plusieurs copies pour certains membres du gène *Hor 1*.

Locus *Hor 2*

Vicente-Carbajosa et *al.* (1992) analysent la structure du DNA génomique du locus *Hor 2*, également par RFLP, mais en traitant ce DNA par plusieurs enzymes. Ils obtiennent des profils électrophorétiques, composés de fragments de plusieurs tailles, et distincts par enzyme et par cultivar. Mais l'enzyme Tag I isole chez tous les cultivars un fragment de 1.4 kb qui est composé de la séquence amont non codante de 400 pb et de la séquence codante de 1000 pb. Ce fragment représente la séquence de base des membres du gène ; la variation des copies de ce fragment porte sur des segments qualifiés par les auteurs d'élastique par substitution, insertion ou délétion de nucléotides.

Kanazin et *al.* (1993) analysent les produits amplifiés obtenus par PCR du gène *Hor 2*. L'amplification se fait par double amorce dans les deux séquences non-codantes. Un segment unique de 2.3 kb est obtenu sur les 10 cv. Cette uniformité du produit PCR indique que le même gène a été amplifié dans les 10 cultivars. Ce segment de 2.3 kb est soumis à l'endonucléase Rsa I. Cinq profils électrophorétiques différents sont obtenus, ils traduisent la variabilité entre cultivars à l'intérieur de la séquence codante. Les auteurs utilisent ensuite une double amorce, homologue des deux régions externes de la séquence codante du gène. Les produits amplifiés sont multiples par cultivar (jusqu'à huit) et différents entre cultivars. Leur taille varie entre 400 et 660 pb. Cependant, un produit de 540 pb est commun aux 10 cultivars. La même technique PCR est appliquée au DNA génomique de 14 espèces sauvages d'orge. Celles-ci présentent toutes des profils distincts des produits d'amplification, et aucun produit n'est propre aux 14 cv. Ces résultats traduisent la structure du domaine répétitif des polypeptides B que nous avons décrite comme très variée (paragraphe 2.2.2.3., polypeptides séquencés, 3^{ème} alinéa, p. 119). Au locus *Hor 2*, il y a un gène commun à tous les cultivars ; la variation entre les autres gènes porte sur la longueur des séquences répétitives qui dépend du nombre de tandems répétés.

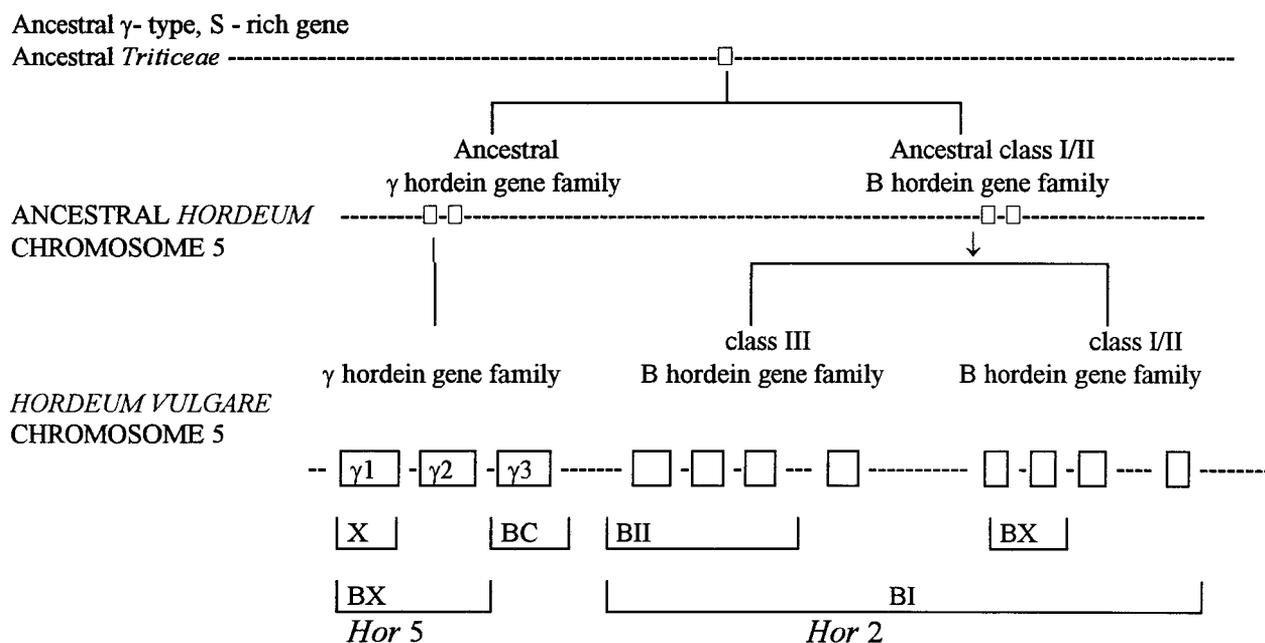


Figure 3.2 : Schéma évolutif des gènes des hordéines riches en soufre. Les sous-unités des hordéines γ et B actuelles sont caractérisées par leurs antigènes communs (Extrait de Rechinger et *al.*, 1993 a).

3.4.4.- *Conclusion : le locus multigénique et son origine*

De l'ensemble de ces données moléculaires se dégage la structure du gène *Hor*. Il est fait de multiples copies d'un gène de base qui diffèrent ensuite entre eux par substitution, insertion ou délétion de nucléotides. Le locus est qualifié de multigénique. Les membres du locus *Hor* forment une famille de gènes, parce qu'ils sont homologues entre eux. Le nombre exact de membres par locus reste encore hypothétique ; les auteurs l'estiment entre 20 et 30 pour les deux gènes (Shewry et *al.*, 1985 pour le gène *Hor 1*, et Bunce et *al.*, 1986, dans Shewry et *al.*, 1990, pour le gène *Hor 2* ; pour ce dernier gène, Kanazin et *al.*, 1993, estiment les copies entre 15 et 30).

Le point de départ de cette structure est la duplication. Celle-ci entraîne un appariement entre chromosomes homologues non rigoureux, d'où il résulte des crossing over inégaux et une augmentation du nombre de copies du gène. On se trouve comme dans un « cercle vicieux » cytologique : lorsque la duplication est enclenchée et viable, tout est fait pour que le nombre de membres d'un gène puisse augmenter. On part donc d'un gène ancestral simple, et celui-ci donne par duplication et divergence le gène à locus multigénique. En suivant ce schéma évolutif, Rechinger et *al.* (1993 a) proposent un modèle d'évolution des gènes d'hordéines riches en soufre que nous reproduisons dans la figure 3.2 ; les hordéines γ sont considérées comme les hordéines ancestrales, parce qu'elles existent chez toutes les céréales comme protéine de réserve. De ce gène simple ancestral ont dérivés la famille de gènes d'hordéines γ et celle des hordéines B sous leur phénotype B1, car c'est ce phénotype qui est le plus proche des hordéines γ .

3.5.- *Utilisation des haploïdes doublés dans le cadre de la génétique des hordéines.*

L'analyse des profils électrophorétiques des hordéines en SDS-PAGE de grains prélevés sur les lignées d'haploïdes doublés a servi à tester des hypothèses formulées dans le

cadre de l'objet d'une publication. L'intérêt des HD est évidemment l'état homozygote de tout le génome qui facilite la reconnaissance des phénotypes de génotypes recombinés homozygotes.

Dans le cadre de la prospection bibliographique réalisée pour le chapitre I, nous avons trouvé trois équipes de chercheurs qui font appel aux HD. Une quatrième équipe, Schön et *al.* (1990), a utilisé des HD dans le même but que nous-même, à savoir le choix possible de génotypes par la méthode *H. bulbosum*. Nous évoquerons son travail dans le cadre de la discussion.

Oram et *al.* (1975) sont parmi les premiers à décrire la ségrégation du gène *Hor 2* en F₂ (paragraphe 3.1., p.122), et ils recherchent les phénotypes recombinés à l'intérieur du locus. Mais, ne les observant pas, ils attribuent cette absence à la difficulté de les reconnaître à l'état hétérozygote. Aussi observent-ils 31 lignées HD issus de la F₁, pensant que les phénotypes recombinés sont plus facilement reconnaissables à l'état homozygote. Ils n'en trouvent pas.

Shewry et *al.* (1980 b) se posent le même problème en voulant isoler des recombinés à l'intérieur des loci *Hor 1* et *Hor 2*. Ils observent des HD issus de deux F₁ sans préciser leur nombre ; mais, ne découvrant pas de recombinés, ils reconnaissent que la taille de l'échantillon des plantes F₂ et HD analysées ne permet pas d'affirmer l'absence de recombinaison au risque de 0.05, vu la distance inférieure à 1 cM entre les membres d'un locus multigénique. Rappelons que Shewry et *al.* (1990) ont isolé sur profil électrophorétique 2D (paragraphe 3.2.2., chapitre I) un phénotype recombiné intralocus *Hor 2*.

Kanazin et *al.* (1993) utilisent les HD dans un autre but que les deux équipes précédentes : ils veulent tester sur les lignées HD si la différence analysée sur l'ADN amplifié en PCR est accompagnée de la ségrégation de phénotypes d'hordéines B. Ils réalisent 70 lignées HD de F₁ de deux croisements. Le gène *Hor 2* de chaque lignée est amplifié par PCR, digéré par l'enzyme Rsa - I et analysé en SDS-PAGE ; d'un autre côté le profil de l'hordéine B de chaque lignée est déterminé en SDS-PAGE. On s'attend au niveau DNA et hordéine B à la ségrégation de deux profils parentaux. Le résultat de l'expérimentation est que sur une lignée HD donnée, on trouve le profil du DNA génomique d'un parent et le profil d'hordéine B du même parent. Les auteurs concluent qu'il y a une bonne reproductibilité du gène *Hor 2* d'amplification en amplification.

4. - CONCLUSION

Les protéines du grain se répartissent, par moitié protéines structurales (albumines, globulines et glutélines) et en protéines de réserves, les hordéines (prolamines). Parmi les cinq types d'hordéines, les hordéines C (pauvre en soufre) et B et γ (riches en soufre) présentent la plus grande diversité en sous-unités polypeptidiques et sont informées par des loci multigéniques. Il en découle une problématique de génétique moléculaire originale faite de l'organisation, du nombre et des relations des gènes au locus, de la détermination des ARNm et de l'homologie entre les sous-unités de protéines. Dans le cadre de notre thèse, il en découle surtout des méthodes de génétique formelle nouvelle dans la manière d'appréhender les phénotypes et de les suivre dans la descendance.

Comme une telle structure de gène n'est pas fréquente (une liste de gènes à locus multigéniques en dehors des protéines de réserve, est donnée dans Entwistle, 1988), la question qui se pose finalement est la raison de son installation pour la synthèse des protéines de réserve des cultivars d'orge mais aussi des espèces sauvage d'orge (Pelger et *al.*, 1993) et plus largement des céréales (les gliadines, les sécilines et les zéïnes sont informées par des loci multigéniques).

Dans le contexte de la sélection, l'existence et le maintien des loci multigéniques peut se justifier de deux manières (Kreis et *al.*, 1983 ; Kanazin et *al.*, 1993) :

1. Les mutations ne sont pas létales puisqu'elles permettent la synthèse de nouvelles protéines que l'embryon est capable de métaboliser, vu leur structure homologue avec les protéines existantes.
2. L'albumen en développement a à sa disposition un grand éventail d'ARNm. Toute variation dans l'écologie du développement est tamponnée par cette abondance, il y aura toujours quelques ARNm qui seront traduits, assurant la construction de la réserve protéique de la graine.

II –MATERIEL ET METHODES

1 - MATERIEL VEGETAL

Deux variétés parentales, des hybrides F₂ et des lignées HD ont été utilisés. L'hybride intervariétal est obtenu par croisement entre les variétés Motan (Mt) et California Mariout 67 (CM 67), toutes deux étant des orges à six rangs. Les lignées HD proviennent de la F₁ de ce croisement (essai 1990/1991). Les effectifs des grains analysés sont les suivants : 46 grains F₂ récoltés sur les plantes F₁, 40 grains récoltés individuellement sur 40 plantes haploïdes doublées.

2 – EXTRACTION ET ELECTROPHORESE DES PROTEINES TOTALES ET DES HORDEINES

Nous avons analysé en électrophorèse sur gel polyacrylamide à dodécylsulfate de sodium, appelée SDS – PAGE (sodium dodecylsulfate polyacrylamide electrophoresis), les protéines totales de toutes les plantes F₂ et HD citées dans matériel. Cette technique (Autran, 1984) a été pratiquée au laboratoire de technologies des céréales à l'INRA de Montpellier durant l'année 1991 avec l'aide de Madame Bonicel.

Puis, pour reconnaître les bandes des hordéines B, C et D sur les profils des protéines totales, nous nous sommes référés à des profils sur gels de gradient des hordéines, extraites en solution alcoolique, de cinq plantes HD. Cette deuxième technique n'a pas été pratiquée par nous-mêmes, mais par Madame I. Bouchez, sous la direction de Monsieur M. Laurière au laboratoire de Chimie Biologique de l'INRA de Grignon, durant l'année 1998.

2.1. - *Extraction et électrophorèse des protéines totales*

2.1.1 - *Extraction des protéines*

L'extraction des protéines totales se fait grâce au solvant aqueux, contenant le dodécylsulfate de sodium à 2 %, détergent solubilisant toutes les protéines d'un tissu. Elle s'effectue sur un grain décortiqué, puis écrasé à l'aide d'un marteau. Le broyat obtenu est dissous dans la solution suivante, à raison de 400 µl de solution pour 50 mg de semoule :

| | |
|--------------------------|----------|
| - solution stock | 3,40 ml |
| - 2 - mercaptoéthanol | 0,95 ml |
| - N. - Diméthylformamide | 1,80 ml |
| - eau distillée | 12,00 ml |

N.B. Cette solution doit être préparée au moment de l'emploi et ne peut être conservée.

La solution stock d'extraction se compose de :

| | |
|--|----------|
| - Tampon tris (hydroxyméthyl) amino méthane 1 M pH 6,8 (121,14 g/l soit 12,114 %) | 6,25 ml |
| - sodium dodécyl sulfaté | 2,00 g |
| - Pyronine G | 10,00 mg |

- Glycérol..... 10.00 ml
- eau distillée..... 28.30 ml

Après homogénéisation et contact pendant trois heures, la suspension est plongée dans un bain-marie bouillant pendant 2 mn 30 pour dénaturer les protéines. Après centrifugation (3500 t/mn), pendant 4 mn, des dépôts de 10 µl sont effectués à l'aide d'une micro seringue.

2.1.2. – *Electrophorèse sur gel linéaire*

La méthode utilisée est la méthode d'électrophorèse en gel de polyacrylamide S.D.S. PAGE (Autran, 1984 qui reprend la technique mise au point par Laemmli, 1970).

Le support électrophorétique se compose de 2 gels de polyacrylamide successifs coulés entre 2 plaques verticales en verre.

Le premier gel, où s'effectue les dépôts, est le gel de concentration de faible pourcentage en acrylamide (environ 3 %). Ce gel comprend :

- 16,80 ml d'une solution contenant 0,6 g d'acrylamide et 8,66 mg de bisacrylamide (N, N'-bis-méthylène acrylamide),
 - 2,50 ml de tris (hydroxyméthyl) amino méthane 1 M pH 6,8 (121,14 g/1000 ml soit 12,114 %).
- Après dégazage, la solution est polymérisée par addition de :
- 0,75 ml de persulfate d'ammonium à 1 %
 - 0,20 ml de sodium dodécyl sulfate (SDS) à 10 %
 - 15,00 µl tétraméthyléthylènediamine (TEMED)

Le gel de séparation (13 % d'acrylamide) est composé de :

- 46 ml d'une solution contenant 22,6 g d'acrylamide et 0,186 g de bisacrylamide pour 100 ml d'H₂O
- 30 ml de tris 1 M, pH 8,8 (121,14 g/1000 ml soit 12,114 %)

Après dégazage, la polymérisation est obtenue par :

- 2,00 ml de persulfate d'ammonium à 1 %
- 0,80 ml SDS. à 10 %
- 40,00 ml TEMED

La solution tampon d'électrophorèse utilisée pour la migration est composée de :

- Glycine..... 141,10 g
- Tris..... 10,00 g
- H₂O qsp..... 1000,00 ml

Le tampon est dilué 10 fois (500 ml/5 litres d'eau). Le pH 8,4 est à ajuster avec de la glycine.

La température du tampon de migration doit être maintenue à l'aide d'un cryostat à 18°C tout au long de l'électrophorèse.

Nous avons utilisé un appareil comprenant 4 gels répartis en 2 cellules. A l'aide d'une micro seringue, on a déposé 10 µl dans chaque puit. Il est possible d'analyser 60 échantillons par manipulation (chaque peigne comprenant 15 puits).

La migration se fait à 3,00 mA pour 100 mm² de surface de passage du courant.

Le temps de migration est d'environ 16 heures

Après la migration, la fixation des protéines se fait dans de l'acide trichloroacétique (TCA) à 15 %. La coloration se fait dans une solution colorante composée de :

- TCA 60 % 104 ml
- bleu de coomassie BBR 250 (Coomassie Brilliant Blue R 250) 25 ml
- H₂O qsp 500 ml

Cette quantité est suffisante pour deux boîtes.

La solution colorante est faite de 0,175 mg de coomassie BBR 250 pour 100 ml de solution colorante. La coloration se fait avec 250 ml de solution colorante.

La décoloration se fait avec du TCA 10 % avec 250 ml de solution décolorante. La solution décolorante est composée de 35 % d'éthanol, 10 % d'acide acétique et de 55 % d'eau. La durée de fixation de la coloration et de la décoloration est de 24 heures pour chacun.

2.2. – Extraction séquentielle et électrophorèse sur gel de gradient sur les composants des protéines

2.2.1. – Extraction des composants des protéines

L'extraction séquentielle des protéines se déroule de la manière suivante : un échantillon de farine provenant de 2 à 3 grains broyés par lignée HD est mis dans la solution aqueuse de chlorure de sodium à concentration de 0,5 M. Le solvant contient la fraction albumine (dissoute dans l'eau) et globuline (dissoute dans la solution saline). Une partie de la fraction non dissoute est reprise et mise dans la solution alcoolique aqueuse d'éthanol à 65 % ; le solvant contient la majorité des prolamines sous la forme des hordéines. Enfin pour extraire toutes les hordéines et en particulier les hordéines D (Blake et *al.*, 1982), une deuxième partie de la fraction non dissoute dans la solution aqueuse de chlorure de sodium est reprise dans la solution alcoolique aqueuse de n-propanol à 35 % complétée par l'acide acétique à 0,1 M et le 2-mercaptoéthanol à 5 %. Finalement trois solutions de protéines structurales et de réserve, sont mises en électrophorèse, la solution à albumine et globuline (protéines structurales) et les deux solutions d'hordéines, l'une contenant la fraction la plus importante des hordéines et l'autre la même fraction des hordéines enrichie en hordéines D.

2.2.2. – L'électrophorèse sur gel de densité

L'électrophorèse des protéines se fait suivant la technique SDS-PAGE sur gel de gradient. La procédure suivie est celle de Laurière et *al.* 1996. Précisons que le tampon de migration contient le réducteur qui rompt les ponts disulfures des hordéines B.

III – RESULTATS

Nous allons d'abord décrire les profils électrophorétiques des protéines totales et définir les phénotypes d'hordéines, puis nous en ferons l'analyse génétique.

1. – LES PROTEINES TOTALES SUR PROFILS ELECTROPHORETIQUES DE GEL LINEAIRE

En suivant la méthode d'analyse de Montembault (1982) et Montembault *et al.* (1983), et en superposant nos gels à ceux de ces auteurs, nous avons distingué les 4 zones appelées A, B, C et D (figure 3.5).

Nous ne considérons pas les bandes de la zone A, identiques entre individus et correspondant aux polypeptides d'albumine et globuline.

La zone D comporte une seule bande, mais sur de nombreux profils (en particulier les profils des lignées HD 9 et 10, figure 3.6 B) on constate qu'elle est faite de deux bandes accolées. La position de cette bande varie en fonction des parents : elle est haute chez Motan (bande moins mobile), basse chez CM 67 (bande plus mobile), et entre individus F₂ et HD, on trouve les deux positions (figure 3.5).

La majorité des polypeptides se situent en zone B et C. La séparation entre les deux zones a été faite en nous référant aux hauteurs de migration des gels Montembault. Les deux zones contiennent respectivement à côté des albumines et globulines, les polypeptides des hordéines B et C représentés par les bandes larges et denses, et nous voyons que les profils se

distinguent respectivement par présence/absence des deux bandes les plus mobiles de la zone C, numérotées 1 et 2 (figure 3.5). Mais comme chez les deux cultivars utilisés l'intervalle de migration entre la bande la plus mobile de la zone C et la moins mobile de la zone B n'est pas plus important qu'entre certaines bandes à l'intérieur des zones B et C, et que nous voudrions reconnaître parmi les polypeptides ceux des hordéines, il nous est apparu nécessaire de qualifier les polypeptides par leurs caractères biochimiques.

2. - DEFINITION DES PHENOTYPES D'HORDEINES B, C ET D SUR PROFILS ELECTROPHORETIQUES D'HORDEINES ET DE PROTEINES TOTALES

2.1. – Les phénotypes des hordéines analysés sur les profils d'hordéines

Nous avons d'abord procédé à l'extraction séquentielle des différentes protéines en utilisant leurs caractères de solubilité sur cinq lignées haploïdes doublées numérotées LX1, LX2, L26, LX3 et L31¹ (figure 3.3). La solution saline dissout les albumines et globulines (figure 3.3 A), les solutions alcooliques, les prolamines, ou hordéines dans le cas de l'orge, en deux extraits successifs, la plus grande quantité dans le premier extrait (figure 3.3 B) et le complément dans le deuxième extrait avec toutes les hordéines, y compris les hordéines D (figure 3.3 C).

Pour distinguer ensuite les polypeptides B de C nous exploitons le caractère agrégé des molécules de polypeptides B par les ponts disulfures : en présence de réducteur dans la solution tampon et grâce aussi à l'action détergente du SDS, les polypeptides deviennent indépendants et migrent normalement (figure 3.4, profils 1 et 2), en leur absence, leur structure est conservée, et ils ne migrent pas dans le gel (figure 3.4, profils 1') : les polypeptides des hordéines C sont présents et ceux des hordéines B sont absents, ceci est bien visible sur le profil 1' de la lignée 26. Sur les profils 2', les polypeptides B sont présents mais de manière diffuse, ceci provient du fait que le solvant d'extraction des protéines contient le réducteur 2-mercaptoéthanol à la concentration de 5 %.

Nous pouvons maintenant caractériser les phénotypes des hordéines B et C sur les deux lignées HD (figure 3.4). Le phénotype de l'hordéine B de la lignée LX2 présente les caractères suivants : la bande 3 est accolée à la suivante 4, plus intense et plus large, et elle-même est accolée à la bande 5 plus fine ; en allant ensuite vers les bandes plus mobiles, nous avons deux bandes fines, 6 et 7 bien reconnaissable sur le profil 2 (sur le profil 1, les deux bandes ne se distinguent pas bien), et enfin la bande 8 épaisse. Le phénotype de l'hordéine B de la lignée L26 présente les caractères suivants : les bandes 1 et 2, les moins mobiles, puis le groupe de bandes 4 et 5, plus intenses que les précédentes ; puis les bandes 6 et 7 fines (sur le profil 1, la bande 7 est à l'état de trace), et la bande 8 intense. La comparaison des profils des deux lignées nous conduit aux faits suivants : les bandes 1 et 2 sont absentes chez LX2, la bande 3 est absente chez L26 ; le groupe 4, 5 de L26 est moins large en hauteur que le groupe 3, 4, 5 de LX2, faisant ainsi ressortir la présence de la bande 3 de LX2 ; les bandes 6 et 7 de L26 (bien visibles sur le profil 2) sont moins mobiles que les 6 et 7 de LX2, la 7 de L26 étant au même niveau de migration que la 6 de LX2. En résumé, la lignée LX2 possède les polypeptides 3 à 8, et la lignée L26, les polypeptides 1, 2, puis 4 à 8 ; entre les deux lignées

¹ Pour les trois lignées numérotées LX, nous ne pouvons pas préciser le numéro de lignée, car le phénotype observé ne correspond pas à celui observé sur les électrophorogrammes des protéines totales. Cette discordance entre les profils des protéines totales et hordéines nous a révélé une erreur de manipulation faite lors de l'électrophorèse des protéines totales : les trois individus avaient été traités sur le même gel et un décalage s'est probablement produit entre le numéro du lot de grain et celui du profil électrophorétique. Mais l'erreur n'ayant aucune conséquence sur les relevés des fréquences des phénotypes, nous avons jugé que nous pouvions exploiter et présenter nos données.

les polypeptides de même PM sont les 4, 5 et 8, le 6 de la lignée LX2 est de même PM que le 7 de L26 ; les polypeptides propres à une lignée sont 3 et 7 pour la lignée LX2, et 1, 2 et 6 pour la lignée L26. Les poids moléculaires des hordéines des deux lignées varient de 34 à 48 kDa (figures 3.3 B et C).

Les phénotypes de l'hordéine C des deux lignées sont identiques : ils sont faits de 5 bandes (bien nettes sur le profil L26,2). La bande 1 nous paraît dédoublée dans l'extrait éthanol (figure 3.4, profils 1 et 1'). Les poids moléculaires des polypeptides C varie de 52 à 55 kDa (figures 3.3 B et C).

Le phénotype de l'hordéine D est caractérisé par une bande au même niveau de migration dans les deux lignées, et cette bande est nettement visible sur les profils 2. Cette caractéristique répond à la propriété chimique que l'hordéine D est extraite efficacement dans la solution alcoolique et acide acétique (Blake *et al*, 1982). Le poids moléculaire de ce polypeptide est de 96 kDa (figures 3.3 B et C).

2.2. Reconnaissance des phénotypes d'hordéines sur les profils des hordéines totales

Nous allons maintenant tenter de reconnaître les polypeptides des hordéines sur les profils des hordéines totales en comparant les profils des parents CM67 et Motan (protéines totales, figure 3.5) à ceux des deux lignées DH (hordéines, figure 3.4). Nous séparons d'abord avec certitude les polypeptides de l'hordéine B de ceux de l'hordéine C, et nous voyons que les bandes 1 et 2 de l'hordéine B sont dans la zone C. Dans cette dernière, nous dénombrons, suivant les profils, 7 ou 9 polypeptides, et nous reconnaissons les 5 polypeptides de l'hordéine C à leur intensité de coloration et leur distance relative de migration, et nous voyons que les deux parents les présentent. Les deux parents portent donc le même allèle au locus *Hor 1*.

La correspondance de l'hordéine B avec les bandes des protéines totales nous a été beaucoup plus difficile à établir. Nous reconnaissons bien les bandes 1 et 2 chez Motan, absentes chez CM67, et la bande 3 chez CM 67, absente chez Motan ; cette bande 3 est moins intense que les bandes 4 et 5, et elle en est mieux détachée que sur les profils des gels de densité (ce caractère est bien visible sur les profil des individus L40, G1 et G2, figure 3.5). Pour les bandes suivantes, nous donnons une correspondance incertaine sur les profils aussi bien des parents que des grains F₂ et des lignées DH (figure 3.5 et 3.6). Ce défaut est compréhensible, quand on voit que la zone de migration des polypeptides B (et aussi C entre les marqueurs moléculaires 55,4 et 36,6 kDa) est occupée par des bandes importantes des polypeptides d'albumine et globuline (figure 3.3 A) qui génèrent un bruit de fond empêchant la reconnaissance des polypeptides d'hordéines. Mais ce bruit de fond ne nous a pas gêné, car, pour déterminer les phénotypes parentaux Motan (MT) ou CM 67 (CM), nous portons notre attention sur les bandes, appelées différentielles, 1 et 2 pour MT, et 3, pour CM. De cette analyse du profil des deux parents, nous pouvons déduire que l'allèle au locus *Hor 2* est donc propre à un cultivar et nous l'appelons B-MT pour Motan, et B-CM pour CM 67.

La bande unique de l'hordéine D se retrouve bien dans la zone D des profils de protéines totales, mais ces derniers profils fournissent apparemment une information supplémentaire, à savoir que la bande du parent Motan est moins mobile que celle du parent CM 67. Nous prenons en compte cette information sur le plan génétique, et considérons que les deux cultivars possèdent un allèle propre au locus *Hor 3* : Motan, l'allèle D-h, CM 67, l'allèle D-b.

A partir de ces critères, nous voyons que les lignées LX2 et L26 ont respectivement le phénotype du parent CM 67 (CM) et Motan (MT) pour les trois hordéines. Nous en donnons le schéma dans la figure 3.7, p. 144. Nous reconnaissons aussi le phénotype hétérozygote de l'hordéine B chez les individus F₂ grâce à la codominance des allèles B-MT et B-CM : il est

défini par la présence simultanée des bandes 1, 2 et 3. Nous en donnons un schéma dans la figure 3.7 (schéma déduit et observé uniquement par les bandes 1, 2 et 3), et des exemples d'hétérozygote se trouvent parmi les profils de la figure 3.6 A. Pour les hordéines D, le phénotype hétérozygote n'apparaît pas, car nous n'avons aucun profil à 2 bandes superposées chez les individus F_2 ; *a priori*, la codominance des deux allèles au locus *Hor 3* ne s'exprimerait pas, et une des deux bandes devrait correspondre au phénotype hétérozygote.

Avec l'ensemble de ces données, nous définissons les phénotypes des hordéines B des grains F_2 et HD (dernière ligne de la figure 3.5), et le phénotype des hordéines B et D (légende de la figure 3.6).

3.- ANALYSE GENETIQUE DES POPULATIONS DE GRAINS F_2 ET DES GRAINS DES LIGNEES HD

Nous savons que l'état haploïde de l'albumen s'exprime chez les hétérozygotes pour un gène biallélique par la distinction de deux phénotypes hétérozygotes à effet d'une ou deux doses de l'un ou l'autre allèle (cf Oram et al, 1975 et paragraphe 3.1, p. 122). Sur notre matériel la reconnaissance de ces phénotypes n'a pas été possible. Aussi, pour simplifier la démonstration génétique, considérons-nous l'albumen comme un individu diploïde.

3.1. - Les ségrégations aux loci *Hor 2* et *Hor 3*

Dans la population F_2 et HD, nous nous attendons à la ségrégation des deux phénotypes parentaux, décrits ci-dessus, et dans la F_2 s'ajoute la ségrégation du phénotype hétérozygote. Les relevés des phénotypes pour les F_2 et les HD sont portés en annexe tableaux 17 et 18, p. 177.

Le phénotype des hordéines C est identique chez les deux parents (CM 67 et Motan) et dans toutes les descendances F_2 et HD analysées, puisque les deux parents ont le même allèle au locus *Hor 1*.

Pour toutes les ségrégations au locus *Hor 2* (hordéine B), les proportions observées correspondent aux proportions attendues (tableaux 3.3).

Tableau 3.3 : Test de ségrégation pour les hordéines B (*Hor 2*) dans les deux populations F_2 et HD

| Génotypes | Nombre de plantes | | | | χ^2 observé pour la ségrégation | | |
|-----------|-------------------|----------|-------|-------|--------------------------------------|-----|-----------|
| | Mt | Hétéroz. | CM 67 | total | 1/2/1 | 3/1 | 1/1 |
| F_2 | 16 | 15 | 15 | 46 | 5,6087 ns | | |
| HD | 20 | | 20 | 40 | | | 0.0000 ns |

Pour la ségrégation au locus *Hor 3* (tableau 3.4), parmi les grains F_2 , nous observons, comme prévu, les proportions théoriques 3 D-h, 1 D-b, donc l'allèle D-h est dominant. Nous évoquerons ce cas singulier au dernier paragraphe de la discussion.

Tableau 3.4 : Test de ségrégation pour les hordéines D (*hor 3*) dans les deux populations F_2 et HD

| Génotypes | | Nombre de plantes | | | χ^2 observé pour la ségrégation | |
|-----------|-----------|-------------------|---------------|-------|--------------------------------------|-----|
| | | Haute (MT) | Basse (CM 67) | total | 3/1 | 1/1 |
| F_2 | Observé | 34 | 12 | 46 | 0,0289 ns | |
| | Théorique | 34,5 | 11,5 | 46 | | |
| HD | Observé | 25 | 15 | 40 | 2,500 ns | |
| | théorique | 20 | 20 | 40 | | |

3.2. - Les recombinaisons entre les loci des hordéines D et B

Les quatre phénotypes en ségrégation pour les hordéines D et B au niveau des deux populations sont CM-H, MT-B et les parentaux CM-B et MT-H, nous faisons l'hypothèse de l'indépendance de deux loci. (tableau 3.5). Pour toutes les ségrégations, les proportions observées correspondent aux proportions attendues. Les loci des hordéines D et B sont donc indépendants.

Tableau 3.5. – Relevé des fréquence des phénotypes pour les hordéines D et B, et l'ajustement aux fréquences attendues

| Phénotypes | F ₂ | | HD | | χ^2 observé pour la ségrégation | |
|------------------|----------------|-----------|---------|-----------|--------------------------------------|--------------|
| | observé | théorique | observé | théorique | F ₂ (6/3/3/2/1/1) | HD (1/1/1/1) |
| hord. B, hord. D | | | | | | |
| B-MT, D-h | 11 | 8,6250 | 12 | 10 | | |
| B-Hétéroz., D-h | 12 | 17,2500 | - | - | | |
| B-CM, D-h | 11 | 8,6250 | 13 | 10 | 9,1884 ns | 2,6000 ns |
| B-MT, D-b | 6 | 2,8750 | 8 | 10 | | |
| B-Hétéroz., D-b | 2 | 5,7500 | - | - | | |
| B-CM, D-b | 4 | 2,8750 | 7 | 10 | | |

4 – DISCUSSION

Avant de commenter ces résultats, nous voudrions indiquer que nous avons fait une analyse génétique bande par bande (au total 23 bandes, les bandes de la zone A exclues) du profil SDS-PAGE des protéines totales (Mekliche et Jean, 1993). Certaines bandes sont présentes chez les deux parents et chez tous les individus F₂ ou HD ; d'autres montrent une ségrégation du type 3 :1 chez les F₂, et 1 :1 chez les HD en présence / absence, d'autres enfin donnent des ségrégation éloignées des proportion précédentes pour lesquelles nous ne pouvions donner d'hypothèse génétique et nous ne pouvions savoir de quelle protéine il s'agissait. Nous avons jugé qu'il n'était pas intéressant de présenter ce travail dans la thèse.

L'exploitation des profils de protéines totales pour déterminer les phénotypes d'hordéines

Nous démontrons que le déterminisme des phénotypes d'hordéines peut se faire sur les profils de protéines totales. Jensen et *al.* (1980) ont suivi la même démarche expérimentale et ils ont même préféré les profils des protéines totales aux ceux des hordéines. Mais il faut reconnaître que la qualité de la lisibilité des profils des protéines dépend des cultivars utilisés, car dans notre matériel certaines bandes de polypeptides d'hordéines ont interféré avec celles des autres protéines. Nous avons fait référence aux bandes appelées différentielles pour déterminer les phénotypes B.

L'homogénéité des échantillons des cultivars Motan et CM 67

Par la cohérence des résultats génétiques entre F₂ et HD, nous démontrons que les échantillons de grains des cultivars parentaux Motan et CM 67 sont homogènes pour les phénotypes d'hordéines. Or cette situation n'est pas du tout générale. En effet, Cooke (1995) montre que, sur 10 grains analysés par variété, 79 sur 706 variétés prospectées (11 %) ont présenté des profils différents, appelés biotypes ; leur nombre par variété est le suivant : pour 70 variétés, 2 biotypes ; pour 7 variétés, 3 biotypes ; pour 1 variété, 4 biotypes ; et pour 1 variété, 5 biotypes. De même Radovic et Rapa (1996) ont montré que, sur 20 grains par variété, 2 sur 33 variétés prospectées (6 %) ont présenté deux biotypes. Il y a donc manifestement une hétérogénéité variétale. Cooke la considère comme faible et l'attribue aux

méthodes de sélection communes dans les pays de l'Europe occidentale, et il pense que cette hétérogénéité pourrait être plus importante dans les variétés d'autres régions.

Cette situation d'hétérogénéité variétale doit donc être logiquement envisagée pour notre matériel. Plusieurs individus en tant que père ou mère d'une variété parentale ont été utilisés dans les croisements pour obtenir les individus F_1 . Si les deux variétés avaient été hétérogènes pour les profils électrophorétiques, nous n'aurions pas su interpréter les données des plantes F_2 , de même que celles des HD.

L'origine gamétique des HD

La ségrégation 1/1 des deux phénotypes parentaux en est la bonne démonstration et elle s'oppose bien à la ségrégation 1/2/1 des individus F_2 pour les hordéines B et 3/1 pour les hordéines D.

L'absence de déviation de ségrégation entre lignées HD pour les loci Hor 2 et Hor 3

Les résultats ci-dessus pour les lignées HD confirment également l'absence de déviation de ségrégation qui serait consécutive à une sélection d'embryons par le milieu de culture. Pour les gènes *Hor 2* et *3* ce n'est pas le cas. Schön *et al.* (1990) ont travaillé avec le même objectif que nous, en analysant la F_2 et la population HD de 42 plantes d'un croisement pour 23 marqueurs parmi lesquels les gènes *Hor 1* et *Hor 2*. Leurs résultats sont aussi conformes aux ségrégations attendues.

Il était admis dans les laboratoires producteurs de plantes haploïdes doublées d'orge que la méthode *H. bulbosum* ne modifiait pas l'échantillon de gamètes F_1 à la différence de la méthode culture d'anthères. En effet, Zivy *et al.* (1992) ont montré que cette dernière technique sélectionnait sept gènes informant la synthèse de protéines structurales. Mais Devaux *et al.* (1995) font une analyse comparée des deux techniques en utilisant des marqueurs moléculaires sur un croisement (Steptoe x Morex) ; ils observent des ségrégations déviées aussi bien dans la méthode *H. bulbosum* que dans la culture d'anthère, mais elle porte sur moins de loci dans la méthode *H. bulbosum*. Nos résultats doivent donc être nuancés par le travail précédent.

Confirmations apportées par notre matériel aux données des auteurs

Nous trouvons des résultats identiques à ceux décrits dans la littérature au sujet de la structure et de la carte génétique des hordéines. Nous avons vu que les hordéines B se résolvent par plus de bandes polypeptidiques que les hordéines C, et qu'elles sont plus polymorphes. Nous ferons la même constatation pour les cv Motan et CM 67, les phénotypes B sont constitués de 6 ou 7 bandes et le phénotype C de 5 bandes ; les phénotypes B sont différents entre cultivars et les phénotypes C, identiques.

Les auteurs ont démontré que les locus *Hor 2* est situé sur le bras court et le locus *Hor 3* sur le bras long du chromosome 5. La distance entre les deux loci de 62,9 cM (paragraphe 3.3.1, p.122) laisse supposer l'indépendance entre les allèles des deux loci, ce que nous avons rencontré.

Codominance ou dominance au locus Hor 3 ?

Le remplacement du phénotype hétérozygote d'hordéine D, caractérisé par deux bandes superposées que Blake *et al* (1982) ont observé sur leur matériel, par le phénotype confondu avec l'un des deux phénotypes parentaux pose le problème de codominance – dominance de deux allèles d'un gène d'un caractère biochimique, la règle générale étant la codominance. Notre matériel ferait donc exception.

Nous avons été incités à nous tenir à l'observation de bandes haute et basse, parce que Montembault *et al* (1983) et Radovic et Vapa (1996) font les mêmes observations. En particulier, ces deux derniers auteurs décrivent des phénotypes identiques aux nôtres sur leurs cultivars locaux (d'ex-Yougoslavie) : les uns présentent la bande haute, les autres, la bande basse, et les deux bandes sont légèrement décalées, et constituées de deux bandes fines juxtaposées. Cependant les deux publications, citées ci-dessus, ne comportent pas d'analyses de descendance qui auraient été bien utiles pour les comparer à nos résultats.

Nos résultats sont les suivants : la ségrégation 3/1 parmi les individus F_2 , la ségrégation 1/1 parmi les lignées DH, et l'indépendance vérifiée entre les locus *Hor 3* et 2. Les deux premiers résultats concordants justifient la dominance d'un allèle sur l'autre, et le troisième résultat est en accord avec les données des auteurs. Alors de deux choses l'une : ou bien notre observation traduit un artéfact chimique qui serait confirmé par les profils du gel de densité, mais dans ce cas il faudrait considérer les trois résultats génétiques, cités ci-dessus, comme un effet du hasard non expliqué par un mécanisme génétique ; ou bien notre observation ne traduit pas d'artéfact chimique, et nous considérons que nos résultats traduisent un mécanisme génétique, mais malheureusement nous n'avons pas d'hypothèse à proposer, expliquant la dominance d'un allèle sur l'autre. Nous laissons la discussion ouverte, parce que la coïncidence de trois faits génétiques, expliquée par le hasard, ne nous satisfait pas.

5 - CONCLUSION

Les analyses génétiques de même que les caryologiques effectuées sur nos plantes HD produites par la méthode *bulbosum* confirment bien leur état haploïde par leur provenance gamétique et haploïde doublé par leur fertilité. Toutes les conclusions, déduites de ces plantes pour l'hétérosis, s'appliquent donc à des plantes homozygotes parfaites.

Figure 3.3 : Profils électrophorétiques en SDS-PAGE (gel de densité) des protéines extraites de manière séquentielle de grains de cinq lignées HD, appelées LX1, LX2, L26, LX3 et L31. Fig. A : albumines et globulines extraites de la solution NaCl 0,5 M. Fig. B : hordéines B et C, extraites de la solution éthanol à 65 % (l'hordéine D apparaît sous forme de trace). Fig. C : hordéines B, C et D extraites de la solution n-propanol 35 %, acide acétique 0,1 M et 2-mercaptoéthanol 5 %. La distinction entre les hordéines B et C se fait suivant les données de l'expérimentation présentée sur la figure 3.4, p. 142.

Le dernier profil à droite sur les photos A et C, et l'avant-dernier sur la photo B sont des profils de référence pour définir les PM, en kDa, des polypeptides : 116,3, β -galactosidase (*E. coli*) ; 97,4, phosphorylase b (muscle de lapin) ; 66,3, albumine du sérum de bovin ; 55,4, glutamic deshydrogénase (foie de bovin) ; 36,5, lactate deshydrogénase (muscle de porc) ; 31,0, carbonic anhydrase (l'érythrocyte de bovin) ; 21,5, inhibiteur de trypsine (graine de soja) ; 14,4, lysozyme (blanc d'œuf) ; 6,0, aprotinine (poumon de bovin).

Photos Bouchez et Laurière.

Figure 3.4 : Profils électrophorétiques en SDS-PAGE (gel de densité) des hordéines des lignées HD, appelées LX2, de phénotype CM 67 (CM), et L26, de phénotype Motan (MT) (Les phénotypes sont définis par comparaison avec les profils des protéines totales, figure 3.5, et voir texte p. 135). 1 et 1' extrait éthanol 65 %, 2 et 2' extrait n-propanol 35 % + acide acétique + 2 mercaptoéthanol, 1 et 2 tampon de migration avec réducteur ; 1' et 2' tampon de migration sans réducteur. Les bandes des phénotypes CM et MT sont numérotées de la manière suivante : les hordéines C, bandes 1 à 5, identiques chez les deux phénotypes ; les hordéines B, bandes 3 à 8 chez le phénotype CM, 1, 2 puis 4 à 8 chez le phénotype MT.

Photo Bouchez et Laurière.

Figure 3.5 : Profils électrophorétiques en SDS-PAGE des protéines totales (gel linéaire) de grains des parents CM 67 (CM) et Motan (MT), de grains (G) F₂, G1 à 5, et de grains de deux lignées (L) HD, L39 et L40 (les deux profils X correspondent à des grains ne concernant pas ce travail). Les polypeptides sont séparés en 4 zones, A à D, en référence aux profils du matériel de Montembault (Montembault, 1982, Montembault *et al.*, 1983). La limite de migration des hordéines D, C et B et la numérotation des polypeptides des profils de Motan et CM 67 sont définies à partir des données des profils d'hordéine (figure 3.4).

Si nous n'avions pas pu disposer des profils d'hordéines, nous aurions pu caractériser les deux phénotypes parentaux des individus F2 et DH par le caractère présence - absence des deux polypeptides les plus mobiles de la zone C (numérotés polypeptides 1 et 2 d'hordéine B) sans préciser le type d'hordéine.

Figure 3.6 : Profils électrophorétiques en SDS-PAGE des protéines totales (gel linéaire) des grains F₂, numérotés de 6 à 19 (figure A), des lignées HD numérotées 4 à 12 (figure B). Par comparaison avec les profils des hordéines (figure 3.4), les polypeptides des hordéines sont reconnus et numérotés. Pour les hordéines B, le phénotype parental Motan (B-MT) est défini par la présence des bandes 1 et 2, et l'absence de la bande 3, le phénotype parental CM 67 (B-CM) par l'absence des bandes 1 et 2, et la présence de la bande 3, et le phénotype hétérozygote (B-hétérozygote), par la présence des bandes 1 à 3. Pour les hordéines D, le phénotype parental Motan (D-h) est défini par la présence de la bande haute, le phénotype parental CM 67 (D-b) par la présence de la bande basse, et le phénotype hétérozygote se confond avec le phénotype Motan. D'où les phénotypes suivants des profils :

| Phénotypes | Grains F ₂ (figure 3.6 A) | Lignées HD (figure 3.6 B) |
|---------------------|--------------------------------------|---------------------------|
| B-MT, D-h | 6, 12 | 4, 7, 11 |
| B-MT, D-b | 8, 10, 11, 13 | 6, 10 |
| B-CM, D-h | 16, 18, 19 | 5, 8, 9 |
| B-CM, D-b | 15 | 12 |
| B-hétérozygote, D-h | 7, 9, 14 | - |
| B-hétérozygote, D-b | 17 | - |

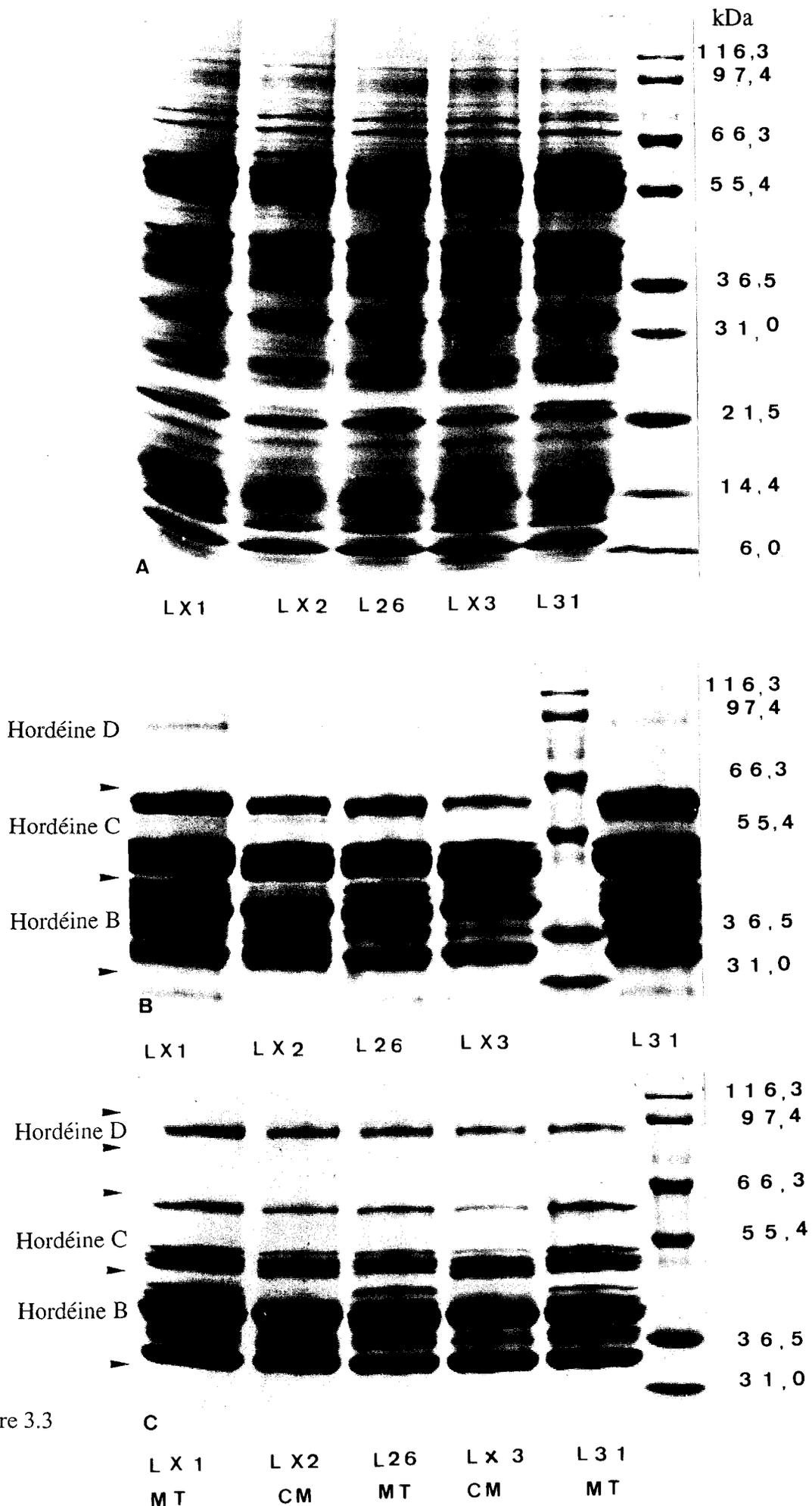


Figure 3.3

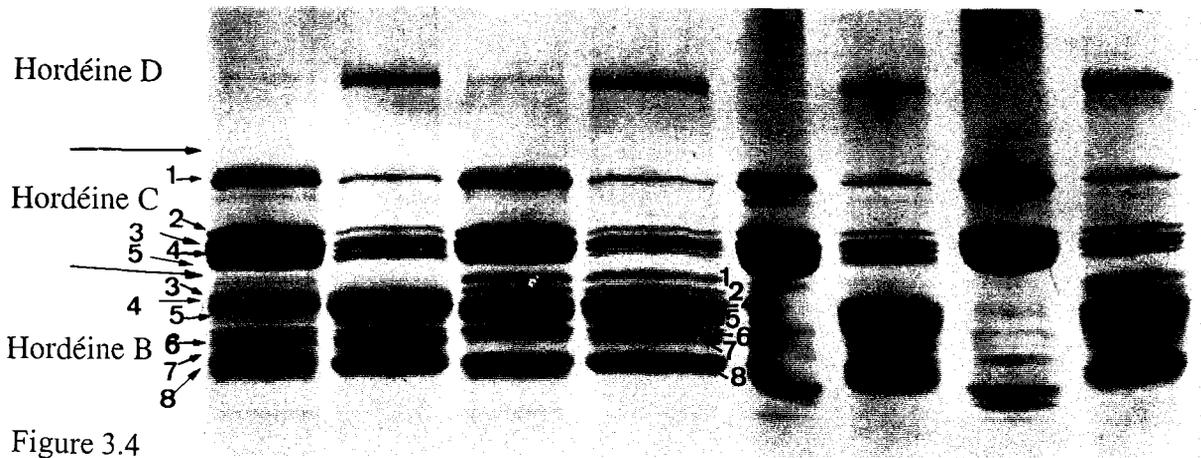


Figure 3.4

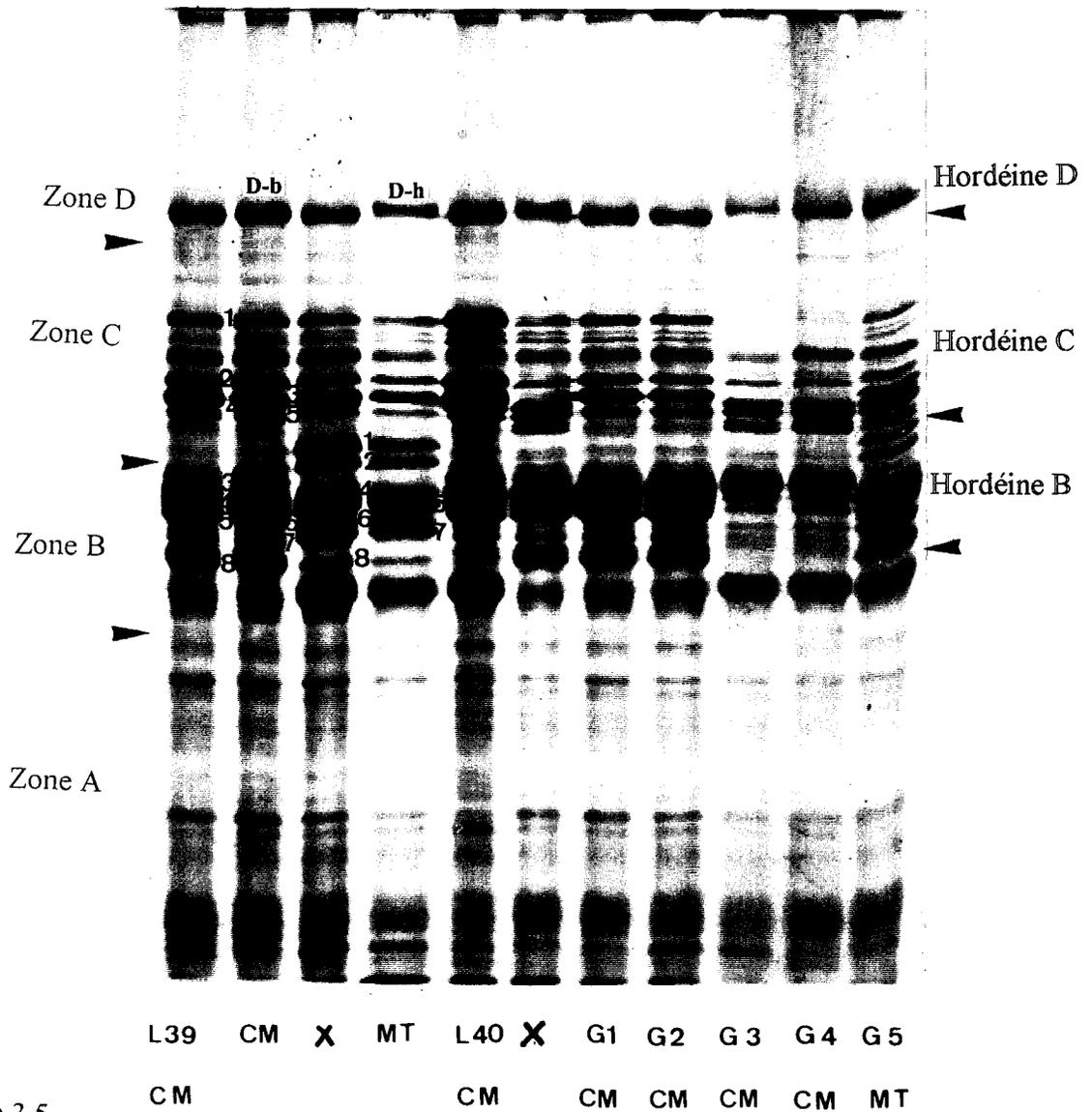
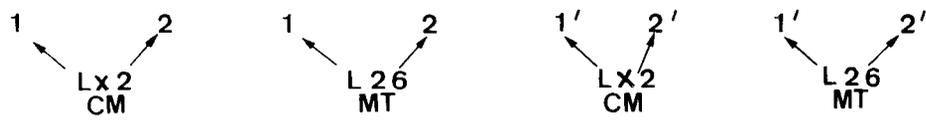


Figure 3.5

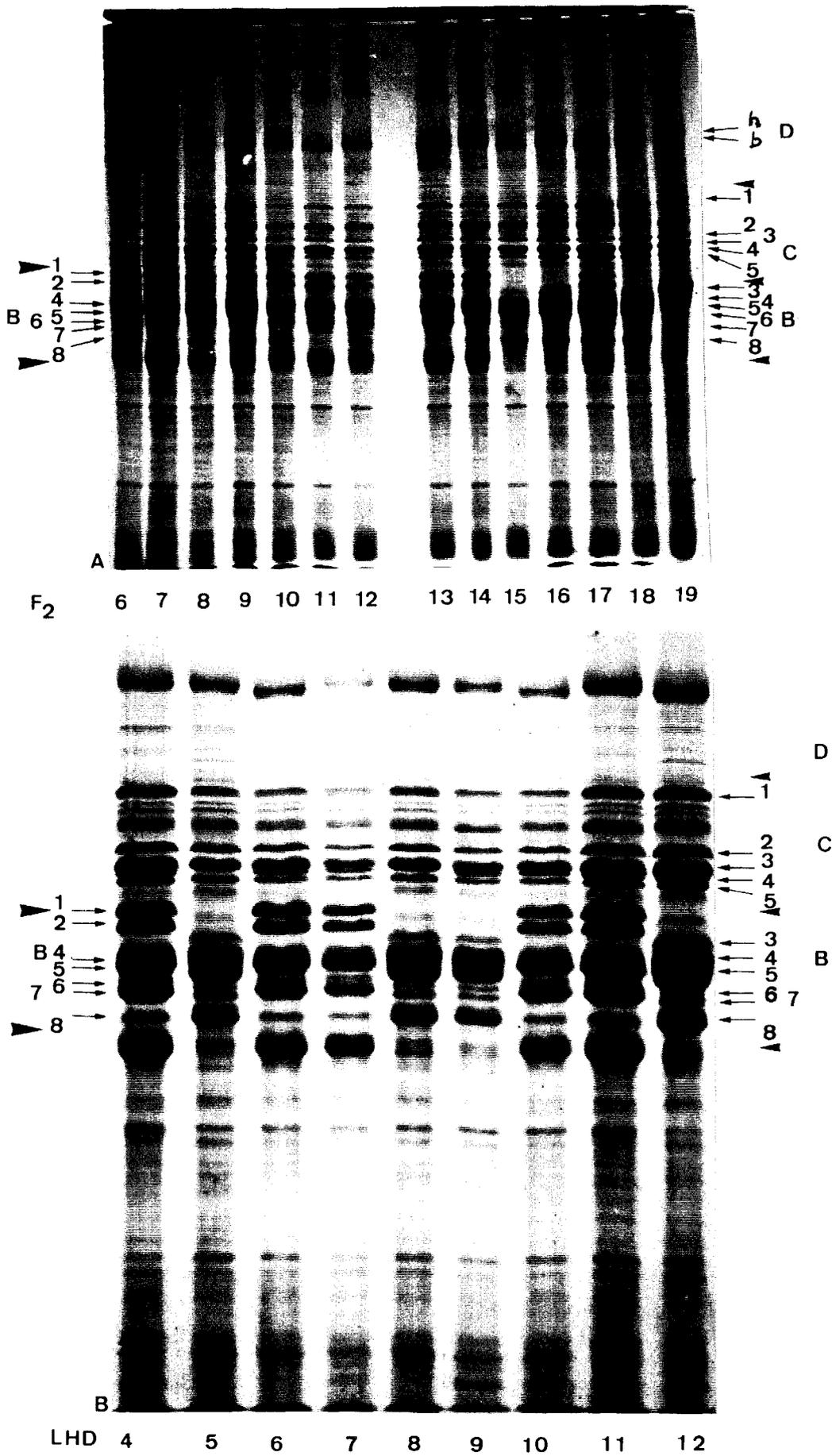
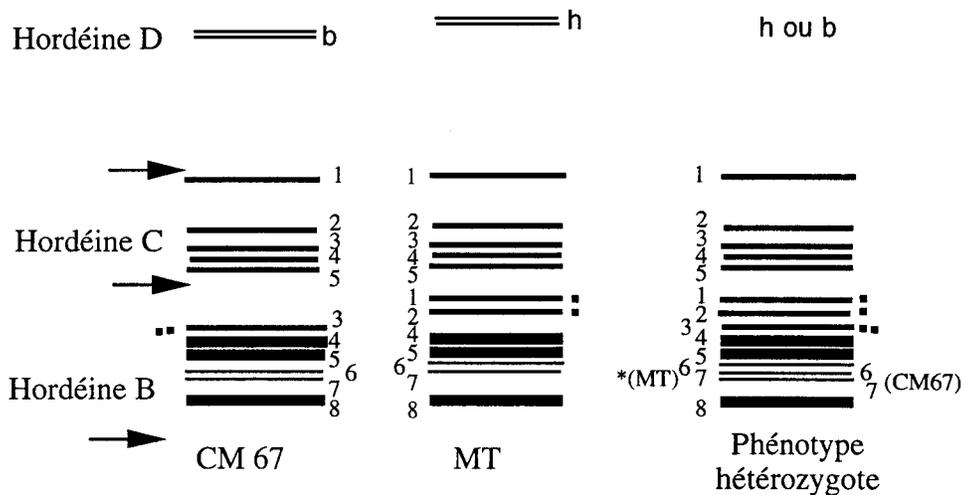


Figure 3.6



- Bandes différentielles du phénotype MT
- Bande différentielle du phénotype CM 67

➔ : limite de classe des polypeptides

Hordéine D :

b : bande basse (la plus mobile), phénotype CM 67

h : bande haute (la moins mobile), phénotype MT

(Bandes basse et haute se résolvent en deux bandes accolées)

*La bande 7 du phénotype Motan se confond avec la bande 6 du phénotype CM67

Figure 3.7 : Schéma d'interprétation des profils électrophorétiques des hordéines des phénotypes parentaux et hétérozygote du croisement Motan x CM 67.

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

Trois questions ont été posées au début de notre projet et auxquelles nous avons essayé de répondre tout au long de ce travail. Ces questions sont :

- Existe-t-il une différence de comportement entre les hybrides F_1 et les lignées parentales ?
- L'hétérosis peut-il être fixé ?
- Les lignées HD montrent-elles la même variabilité génotypique que la génération F_2 ?

Pour cela, nous avons dû mettre au point la méthode d'obtention d'HD par croisement interspécifique qui nous a amené à analyser les facteurs environnementaux de la production des plantes haploïdes et vérifier leur état d'haploïde doublé sur le plan caryologique et génétique à l'aide des gènes de l'hordéine.

Hétérosis et possibilités d'utilisation

Importance de l'hétérosis

Dans notre expérience avec croisement dialléle 8 x 8, l'hétérosis est faible pour les caractères agronomiques. En effet pour le rendement en grain, la moyenne des F_1 est pratiquement égale à la moyenne des parents. Pour le rendement en paille, la moyenne des croisements est inférieure à la moyenne des parents, ce qui signifie une nette tendance à ce que le parent faible « domine » le parent fort. Or, il y a un hétérosis pour la hauteur de la paille, cependant, l'hétérosis pour le nombre d'épis est aussi négatif ($H = -15.36\%$). Cela pourrait être dû à une opposition entre tallage végétatif et tallage reproducteur, exacerbé en conditions de compétition. Par contre au niveau du maître-brin, il apparaît bien une vigueur hybride (13 %) pour le rendement en grains et ses composantes. Cela souligne bien le rôle probable de la compétition entre le maître-brin et les autres talles reproductives. La performance du maître-brin apparaît plus stable et traduit mieux des différences de potentiel génétique.

Pour tous les caractères étudiés, il est apparu une grande variation entre croisements même si les valeurs phénotypiques sont entachées d'une erreur expérimentale assez forte. Des croisements hétérotiques pour le rendement en grain et le rendement en paille sont bien observés, avec une influence de la distance génétique entre parents. Cependant les hétérosis les plus forts font intervenir au moins un mauvais parent, sinon deux. Ceci explique que l'hétérosis économique est très faible pour les principaux caractères agronomiques (3 % pour le rendement en grain).

Effets génétiques

Les différentes analyses réalisées (analyse de *Griffing*, de *Hayman*, étude de corrélations) montrent une forte additivité pour différents caractères : nombre de grains, poids de mille grains, longueur de l'épi, résistance à l'oïdium, hauteur de la tige et précocité. Les caractères les moins additifs sont le rendement en grain, le rendement en paille et l'indice de récolte. Le poids des grains du maître-brin est assez intermédiaire. Ainsi les caractères les moins additifs sont les caractères les plus complexes c'est-à-dire des caractères produits de caractères plus élémentaires. Il est particulièrement intéressant pour le sélectionneur d'avoir une forte additivité sur les composantes du rendement en grain. La non additivité observée sur ce caractère est le résultat du produit de ses composantes. Il pourrait donc être possible de sélectionner sur ces composantes au niveau du maître-brin qui semble avoir un comportement

plus stable. La prédominance des effets additifs va dans le sens de la fixation possible de l'hétérosis. La production de lignées aussi bonnes que la F_1 serait alors possible.

La comparaison de l'hétérosis F_1 et F_2 montre que dans la majorité des cas étudiés comme attendu l'hétérosis diminue de moitié après un cycle d'autofécondation. Cependant, certains croisements montrent une baisse de l'hétérosis beaucoup plus importante pour le rendement ou ses composantes. Pour ces caractères, il semble qu'il y ait un effet épistasie, mais aussi de forts effets de compétition.

Pour un croisement étudié, il apparaît que les lignées HD peuvent être un moyen rapide pour obtenir des lignées aussi bonnes que la F_1 pour la plupart des caractères. Les tests au niveau des lignées HD pour ce croisement tendent à montrer l'existence d'effet d'épistasie pour de nombreux caractères liés au rendement. Ce résultat est original et peu d'expériences ont été faites pour tester l'épistasie par la méthode de comparaison des lignées HD aux parents. Il faut bien sûr faire l'hypothèse qu'elles représentent un échantillon au hasard de toutes les lignées possibles. Avec cette hypothèse, nos résultats rejoignent ceux de Goldringer et al. (1997) sur le blé, montrant une composante importante d'épistasie. La comparaison F_1 , F_2 et parents ne permet pas de tester l'épistasie dans nos conditions de culture dense : elle est très affectée par les effets de la compétition entre plantes hétérogènes au niveau F_2 .

Rôle de la compétition

Les effets de la compétition sont apparus dans tous les tests impliquant la F_2 , soit dans le test $C = 2 F_2 - F_1 - \bar{P}$, soit dans la comparaison $F_2 - HD$. Il est apparu des effets de compétition intra ligne, entre génotypes différents, intra F_2 et des effets de compétition entre lignes au niveau des lignées HD. Les caractères qui semblent le plus affectés ou impliqués dans cette compétition sont essentiellement le nombre d'épis (donc le tallage) et le rendement en paille. Cela se traduit pour ces caractères, par une forte variance environnementale au niveau F_2 associée à un « écrasement » des différences génotypiques, d'où une héritabilité très faible. Par contre les caractères du maître-brin sont beaucoup moins affectés et peuvent donc être sélectionnés en F_2 . En effet, pour ces caractères l'organisation de la variabilité apparaît la même au niveau F_2 et lignées HD, au moins pour le croisement étudié. Cet effet de compétition par le tallage se traduit aussi par des F_2 souvent plus faibles qu'attendu, ce qui ne permet pas d'envisager de les utiliser pour exploiter l'hétérosis.

Pour limiter les effets de compétition entre parcelles, il eut fallu au moins 3 lignes par parcelles et ne récolter que la ligne centrale. Pour analyser les effets de compétition sur la variance observée et éviter de les confondre dans les estimations des variances génétiques, il eut fallu un dispositif beaucoup plus lourd, en particulier pour l'étude des lignées HD, mais alors, nous nous serions éloigné des préoccupations du sélectionneur.

Possibilités d'utilisation de l'hétérosis

L'avantage des F_1 apparaît faible, trop faible pour justifier des programmes coûteux de sélection d'hybrides. De plus, l'hétérosis apparaît fixable, cela tend à être montré par la combinaison de trois faits : la forte additivité, la forte corrélation entre la valeur F_1 et le parent moyen, et le faible hétérosis économique. Cela est de plus vérifié au niveau d'un croisement pour lequel nous avons analysé un ensemble de lignées HD. Il apparaît toutefois que pour avoir quelques chances de fixer la valeur F_1 au niveau HD, il faudra étudier au moins 150 à 300 lignées HD et autant plus que l'hétérosis sera fort et l'héritabilité faible. Cela semble toutefois à la portée du sélectionneur.

Enfin, il est clair qu'il aurait été nécessaire d'avoir une répétition de tous les essais deux années de suite. Nous pensons néanmoins que l'expérimentation réalisée a bien permis de répondre à certaines questions sur l'importance de l'hétérosis, la nature des effets génétiques et l'intérêt de l'haplodiploïdisation de F_1 pour le développement de lignées.

Contribution à la production des plantes haploïdes doublées

Nous devons avant tout maîtriser une technique découverte en 1970 et mise au point dans les années 70 et 80. Elle est maintenant une méthode de routine dans les grandes Maisons de sélection. Nous n'avons fait qu'appliquer les procédures des auteurs. Notre apport est d'avoir apprise et pratiquée la méthode *bulbosum* dans des conditions climatiques méditerranéennes et avec un équipement de laboratoire minimum. Dans ce contexte, nous montrons que la pollinisation et la nouaison, qui, en Europe, doivent se faire en serre pour améliorer la température, peuvent se faire au champ dans la région d'Alger. Dans les deux situations on atteint la même efficience à l'haploïdie, la nôtre se situe dans la valeur de 4,59 % (taux de plantes haploïdes produites par fleur pollinisées).

Ce résultat moyen en référence aux réalisations des laboratoires européens est obtenu en utilisant un milieu de culture pour les embryons dépourvu d'hormones et de vitamines. C'est une performance qu'aucun auteur n'a encore signalé.

Nous montrons en outre que la meilleure période de pollinisation s'étend du 10 au 30 avril à Alger, et nous pensons que ce temps est valable pour toute la plaine côtière.

Contribution aux hordéines pour les cv Motan et CM 67.

Le travail de biochimie et génétique dans le contexte des plantes haploïdes doublées fut un travail d'apprentissage à la technique en électrophorèse et au typage des phénotypes d'hordéines, en exploitant les données des auteurs. Nous l'avons réalisé sur les cv Motan et CM 67, et leur descendance F_2 et HD. Notre contribution est de donner les caractéristiques polypeptidiques des hordéines en SDS-PAGE de ces cultivars.

Les profils électrophorétiques des hordéines B sont différentes : Motan présente deux bandes propres, et CM 67 une bande propre parmi les polypeptides les moins mobiles, et ensuite les deux cv présentent 5 bandes identiques dont deux légèrement décalées d'un cv à l'autre. Le poids moléculaire des huit bandes va de 34 à 48 kDa. Le locus *Hor 2* possède donc un allèle propre à chaque cv. Chez les hétérozygotes, les deux allèles donnent un phénotype reconnaissable. Les ségrégations en F_2 et HD sont conformes à ces définitions et le milieu de culture des embryons ne favorise pas l'un ou l'autre phénotype parental.

L'hordéine D se résoud à une seule bande polypeptique, comme c'est le cas chez tous les cultivars. Mais cette bande, sur certains profils, faits à partir de solution à concentration protéique plus réduite, apparaît constituée de deux bandes fines accolées. La bande D unique peut prendre deux positions : chez Motan la position haute, chez CM 67, la position basse. Mais la différence de poids moléculaire entre les deux positions est très faible ; le poids moléculaire se situe à 96 kDa. Le locus *Hor 3* possède donc un allèle propre aux cultivars. L'hétérozygote qui devrait présenter deux bandes, ne le fait pas, et en F_2 on observe la ségrégation 3 bandes hautes / 1 bande basse. Donc l'allèle bande haute est dominant sur l'allèle bande basse. Cette exception à la codominance est connue des auteurs pour certaines variétés. Elle n'a pas encore reçu d'explication.

Contribution à l'amélioration de l'orge

Cette contribution se situe dans le prolongement de mon travail de thèse. Parmi les lignées HD, nous en avons sélectionné quelques-unes pour la résistance à la sécheresse ; après les

avoir testées pendant plusieurs années, nous avons isolé un géotype qui pourra être diffusé par le Ministère de l'Agriculture.

L'avenir de mes recherches se situe dans ce domaine : trouver des cultivars améliorés, adaptés aux climats de mon pays.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ADAMSKI T., 1979. The obtaining of autodiploid barley lines using haploids from the cross *Hordeum vulgare* L. x *Hordeum bulbosum* L. *Genetica Polonica*, 20 : 31 - 41.
- AHMAD Z., KUMAR P., KATIYAR R.P. and GUPTA R.R., 1979. Heterosis in macaroni wheat. *Indian J. Genet. Pl. Breed.*, 39 : 279 - 284.
- ANDERSEN A.J., KOIE B., 1975. N fertilization and yield response of high-lysine and normal barley. *Agron. J.*, 67 : 695 - 698.
- ANONYME, 1968 à 1992. Evolution des superficies, de la production et des rendements. Statistiques céréalières de 1876 - 1992 Institut Technique des Grandes Cultures. M.A.R.A., 25 p.
- ARACONCILLO C., SANCHEZ - MONGE R. and SALCEDO G., 1981. Two groups of low molecular weight hydrophobic protein from barley endosperm. *J. Exp. Bot.*, 32 : 1279 - 1286.
- ATALE S.B. and VITKARE D.G., 1990. Heterotic expression for yield and yield components in 15 x 15 diallel in breadwheat. *Indian J. Genet.*, 50 : 153 - 156.
- AUTRAN J.C., 1984. Manuel d'instruction sur la technique d'identification des variétés de blé dur par électrophorèse des protéines en gel de polyacrylamide-S.D.S. Laboratoire de technologie des céréales. I.N.R.A. Montpellier, 23 p.
- AUTRAN J.-C., LEW E.J.-L., NIMMO C.C. and KASARDA D.D., 1979. N-terminal amino-acid sequencing of prolamin from wheat and related species. *Nature*, 282 : 527 - 529.
- BALDY Ch., 1974. Quelques réflexions concernant les caractères du rendement des blés. *Ann. Amélior. Plantes*, 24 : 193 - 199.
- BANGARWA K.S., LUTHRA O.P., JATASRA D.S. and VERMA P.K., 1984. Relative stability of different generations for gluten content in durum wheat (*Triticum durum*). *Cuban J. Agric. Sci.*, 18 : 57-62.
- BENNETT M.D., FINCH R.A. et BARCLAY I.R., 1976. The time rate and mechanism of chromosome elimination in *Hordeum* hybrids. *Chromosoma*, 54 : 175 - 200.
- BEWLEY J.B. and BLACK M., 1985. Seeds physiology of development and germination. Ed. Plenum Press, N.Y. and London, 367 p.
- BHADOURIA S.S., SINGH K.P. and SHRIVASTAVA P.S. 1976. Heterosis in common wheat *Triticum aestivum*. *Jawaharlal Nehru Krishi Vishwa Vidyalaya Res. J.*, 10 : 219 - 225.
- BHOWMIK A., ALI M.S. and SADEQUE Z., 1990. Genetic analysis of kernel weight in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Bangladesh J. Bot.*, 19 : 21 - 27.
- BITZER M.J., PATTERSON F.L. and NYQUIST W.E., 1982. Hybrid vigor and combining ability in a high - low yielding of eight - parent diallel cross of soft red winter wheat. *Crop Sci.*, 22 : 1126 - 1129.

- BJORNSTAD A., 1986. Partial incompatibility between scandinavian six rowed barleys (*Hordeum vulgare* L.) and *Hordeum bulbosum* L., and its genetical basis. *Hereditas*, 104 : 171 - 191.
- BLAKE T.K., ULLRICH S.E. and NILAN R.A., 1982. Mapping of the Hor-3 Locus Encoding D Hordein in Barley. *Theor. Appl. Genet.*, 63 : 367- 371.
- BOLAND O.W. and WALCOTT J.J., 1985. Levels of heterosis for yield and quality in an F1 hybrid wheat. *Aust. J. Agric. Res.*, 36 : 545 - 552.
- BORGHI B., PERENZIN M., NASH R.J., 1988. Agronomic and qualitative characteristics of ten bread wheat hybrids produced using a chemical hybridizing agent. *Euphytica*, 39 : 185-194.
- BOTHMER .R. von, JACOBSEN N., 1985. Origin, Taxonomy, and Relate Species. - In : RASMUSSEN D. (ed.), *Barley*, 19 - 56. Monographie N° 26 de la série "Agronomy" ; American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, Publishers ; Madison, Wisconsin (U.S.A).
- BOTHMER .R. von, JACOBSEN N. and JÖRGENSEN R., 1981. Phylogeny and taxonomy in the genus *Hordeum*. In *Barley genetics IV. Proceedings of the Fourth International Barley Genetics Symposium*. Edinburgh, 22 - 29 july 1981, 13 - 21.
- BOTHMER R. von, JACOBSEN N., JORGENSEN R.B. and LINDE-LAURSEN I., 1995. An ecogeographical study of genus *Hordeum*. In : *Systematic and Ecogeographic Studies on Crop Gene pools*. 7. 2nd ed., International Plant Genetic Resources (IPGRI), Rome, 129 p.
- BRANDT A., MONTEBAULT A., CAMERON-MILLS V. and RASMUSSEN S.K., 1985. Primary structure of a B1 hordein gene from barley. *Carlsberg Res. Comm.*, 50 : 333 - 345.
- BREEZE E.G., 1969. The measurement and significance of genotype x environment interaction in grasses. *Heredity*, 24 : 27 - 44.
- BRIGGS D.E., 1978. *Barley*. Ed. Chapman and Hall, N.Y., 612 p.
- CALIGARI P.D.S., POWELL W., JINKS J.L., 1987. A comparison of inbreed lines derived by doubled haploidy and single seed descent in spring barley (*Hordeum vulgare*). *Ann. Appl. Biol.*, 111 : 667 - 675.
- CAMERON - MILLS V., 1980. The structure and composition of protein bodies purified from barley endosperm by silica sol density gradient. *Carlsberg Res. Comm.*, 45 : 557 - 576.
- CAMERON - MILLS V. and WETTSTEIN D. von, 1980. Protein body formation in the developing barley endosperm. *Carlsberg Res. Comm.*, 45 : 577 - 594.
- CAMERON - MILLS V. and BRANDT a., 1988. A γ - hordein gene. *Plant Mol. Biol.*, 11 : 449 - 461.

CAUDERON Y. et CAUDERON A., 1956. Etude de l'hybride F₁ entre *Hordeum bulbosum* L. et *H. secalinum* Schreb. Ann. Amélior. plantes, 3 : 307 - 317.

CAUDERON Y. et GAY G., 1984. Observation des mitoses somatiques. Fiches techniques à l'usage des laboratoires de cytologie et de cytogénétique. Groupe de cytologie et cytogénétiques I.N.R.A., 7. p.

CAUDERON Y. et GAY G., 1984. Observation des méioses dans les cellules mères de pollen (C.M.P.). Fiches techniques à l'usage des laboratoires de cytologie et de cytogénétique. Groupe de cytologie et cytogénétique. I.N.R.A., 26.

CHARCOSSET A., GALLAIS A., 1998. Intérêt des marqueurs en sélection. In Les marqueurs moléculaires en génétique et biotechnologies végétales. Ed. D. de Vienne, INRA. Paris, 138 – 159.

CHAUDHARY B.D. and RAI L., 1982. Estimation of epistatic components for seed size. Genet. Iber., 34 : 117 - 124.

CHAUDHARY B.D. and SINGH V.P., 1977. Heterosis and its components for grain yield in barley. Genet. Iber., 29 : 201 - 206.

COOKE R.J. 1995. Distribution and diversity of hordein alleles in barley varieties. Seed Sci & Technol., 23: 865 - 871.

COUMANS M.P., BOUTOUCHENT F., DUSAUTOIR J.C. et KAAN F., 1992. Obtention d'embryons par croisements interspécifiques entre le blé dur et d'autres céréales. Séminaire "Tolérance à la sécheresse des céréales en zone méditerranéenne. Diversité génétique et amélioration variétale. Montpellier (France), 15 - 17 décembre 1992. Ed. I.N.R.A., Paris 1993. Les colloques, 64 : 375 - 381.

COUSIN R., 1969. Les essais diallèles. Le sélectionneur français, 7 : 75 - 96.

COX T.S. and MURPHY J.P., 1990. The effect of parental divergence on F₂ heterosis in winter wheat crosses. Theor. Appl. Genet., 79 : 241 - 250.

CREGAN P.B. and BUSCH R.H., 1978. Heterosis, inbreeding, and line performance in crosses of adapted spring wheat. Crop Sci., 18 : 247 - 251.

CREIGHTON T.E., 1993. Proteins. Structure and molecular properties. Ed. Freeman and Co., N.Y., 2 nd ed., 507 p.

DEMARLY Y., 1977. Génétique et amélioration des plantes. Ed. Masson, 287 p.

DESHMUKH S.N. and DESHMUKH J.N., 1989. Extent of heterosis in a few crosses of *wheat Triticum* spp. Punjabrao Krishi Vidyapeeth Res. J., 13 : 63 - 66.

DEVAUX P., 1983. Haploïdes doublés issus d'orge d'hiver par la méthode *bulbosum*. Thèse de doctorat 3ème cycle agron., Université Lille I., 125 p.

- DEVAUX P., 1987. Comparison of anther culture and *Hordeum bulbosum* method for the production of doubled haploid in winter barley. I. Production of green plants. *Plant Breeding*, 98 : 215 - 219.
- DEVAUX P., 1991. Investigations to improve doubled haploid production efficiency in a winter barley breeding programme. *Cereal Res. Commun.*, 19 : 51 – 58.
- DEVAUX P., 1995. Production and use of doubled haploïds for breeding barley. In : Proc. 7 th. Australian Barley Tech. Symp.; Perth, Western Australia, 195 – 199.
- DEVAUX P., 1998. Les plantes haploïdes chez l'orge, avec extension au blé: méthodes d'obtention et relations avec l'organisation de leur génome. Thèse de Docteur ès-Sciences Naturelles. Université des sciences et technologies de Lille, n° d'ordre : 807, 157 p.
- DEVAUX P., LEFEBVRE J. et JEAN R., 1981. Analyse de la ségrégation mendélienne « 2 rangs d'épillets, 6 rangs d'épillets » sur l'épi d'orge cultivée. *Bull. Soc. Bot. N. Fr.*, 34 : 51 – 58.
- DEVAUX P., ADAMSKI T and SURMA M., 1992. Inheritance of seed set in crosses of spring barley and *Hordeum bulbosum* L. *Crop Sci.*, 32 : 269 – 271.
- DEVAUX P., KILIAN A. and KLEINHOF S A., 1995. Comparative mapping of the barley genome with male and female recombination doubled haploid populations. *Mol. Gen. Genet.*, 249 : 600 - 608.
- DUFFUS C.M. and COCHRANE M.P., 1992. Grain structure and composition. *In Barley : Genetics, biochemistry, molecular biology and biotechnology*. Ed Shewry P.R., CAB international, 291 – 317.
- DOLL H., 1980. A nearly non-functional mutant allele of the storage protein locus Hor-2 in barley. *Hereditas*, 93 : 217 - 222.
- DHONUKSHE B.L. and RAO M.V., 1979. Heterosis in durum wheat. *Indian J. Genet. Pl. Breed.*, 39 : 285 - 291.
- EBERHART S.A. and GARDNER C.O., 1966. A general model for genetic effects. *Biometrics*, 22 : 864 - 881.
- EDWARDS L.H., KETATA H. and SMITH L.E., 1976. Gene action of heading date, plant height, and other characters in two winter wheat date. *Crop Sci.*, 16 : 275 - 277.
- ENTWISTLE J., 1988. Primary structure of a C-hordein gene from barley. *Carlsberg Res. Comm.*, 53 : 247 - 258.
- EVANS L.T., RAWSON H.M., 1970 . Photosynthesis and respiration by the leaf and components of the ear during grain development in wheat. *Aust. J.Sci.*, 23 : 245 - 254.
- FAULKS A. J., SHEWRY P.R. and MIFLIN B.J., 1981. The Polymorphism and Structural Homology of Storage Polypeptides (Hordein) Coded by the Hor-2 Locus in Barley (*Hordeum vulgare* L.). *Biochem. Genet.*, 19 : 841 - 858.

- FEDAK G., 1976. Evaluation of doubled haploids in barley. *Z. Pflanzenzüchtg.*, 76 : 147 - 151.
- FEDAK G. and FEJER S.O., 1975. Yield advantage in F1 hybrids between spring and winter barley. *Can. J. Plant Sci.*, 55 : 547 - 553.
- FEJER S.O. and FEDAK G., 1978. Heterosis in conventional and short straw barley crosses. *Z. Pflanzenzüchtg.*, 80 : 250 - 260.
- FEYT H., non daté. Interprétation des croisements diallèles méthode de HAYMAN. Laboratoire d'amélioration des plantes. Université de Paris Sud. Orsay, 24 p.
- FISHER R.A. et YATES F., 1963. Statistical tables for biological, agricultural and medical research. Ed. Longman., 6ème édition, 146 p.
- FINCH R.A., 1983. Tissue specific elimination of alternative whole parental genomes in one barley hybrid. *Chromosoma*, 88 : 386 - 393.
- FOLKES B.F. and YEMM E.W., 1956. The amino-acid content of the proteins of barley grain. *Biochem. J.*, 62 : 4 - 11.
- FORDE B., KREIS M., BARAHMIAN M.B., MATHEWS J.A., MIFLIN B.J., THOMSON R., BARTELS D. and FLAVELL R., 1981. Molecular cloning and analysis of cDNA sequences derived from poly A⁺ RNA from barley endosperm : identification of related hordein clones. *Nucleic Ac. Res.*, 9 : 6689 - 6707.
- FOROUGHI-WEHR B., PICKERING R.A. et FRIEDT W., 1981. Related response of barley cultivars to the *bulbosum* and anther-culture techniques of haploid production. *Barley Genet. Newsl.*, 11 : 54 - 59.
- FOSTER C.A. et FOTHERGILL M., 1981. Breeding F₁ hybrid barley. *Barley. genetics IV. Proceedings of the Fourth International Barley Genetics Symposium. Edinburgh, 22 - 29 July 1981* : 766 - 771.
- FREY K.J., 1954. Inheritance and heritability of heading date in barley. *Agron. J.*, 46 : 226 - 228.
- FUKUYAMA T. and KUROZUMI T., 1979. Studies on the interspecific hybrid between *Hordeum bulbosum* L. and *H. vulgare* L. *Ber. Ohara Insti. landw. Biol. Okayama Univ. Abstracts of the articles printed in Nogaku Kenkyu, 1977*, 56 : 179 - 194.
- FUKUYAMA T. and HOSOYA H., 1981. Time pattern and genetic control of chromosome elimination in interspecific hybrids between 4 x *Hordeum bulbosum* L. and 4 x *H. vulgare* L. *Barley. Genetics Newsl.*, 11 : 47 - 50.
- FUKUYAMA T. and TAKAHASHI R., 1975. A study of the interspecific hybrid, *Hordeum bulbosum* (4 x) X *H. vulgare* (4 x), with special reference to dihaploid frequency. *In Barley Genetics III. Proceedings of the Third International Barley Genetics Symposium, Garching, 1975* : 351 - 360.

- GABILLARD D, 1983. Amélioration du rendement protéique de l'orge : génétique quantitative et agro - physiologie. Thèse de docteur de 3ème cycle. Mention : sciences agronomiques. Institut National Polytechnique de Toulouse, 134 p.
- GALLAIS A., 1972. Competition and breeding for yield in codksfoot. Proc. Eucarpia Fodder Crops Section. Dublin. Ed Valle Ribeiro, 210 – 232.
- GALLAIS A., 1988. Heterosis : Its genetic basis and its utilisation in plant breeding. *Euphytica*, 39 : 95 - 104
- GALLAIS A., 1990. Théorie de la sélection en amélioration des plantes. Collection sciences agronomiques. Ed. Masson, Paris, Milan, Barcelone, Mexico, 588 p.
- GAUTAM P.L. and JAIN K.B.L., 1985. Heterosis for various characters in Durum wheat *Triticum durum*. *Indian J. Genet. Plant. Breed.*, 45 : 159 - 165.
- GOLDRINGER I., BRABANT P., GALLAIS A., 1997. Estimation of additive and epistatic genetic parameters in a population of doubled haploids lines in wheat. *Heredity*, 79: 60 – 71.
- GOLDRINGER I., BRABANT P., KEMPTON R., 1994. Adjustment for competition between genotypes in single row trials of winter wheat. *Plant Breeding*, 122: 294 – 300.
- GRAFIUS J.E., 1959. Heterosis in barley. *Agron. J.*, 51 : 551 – 554.
- GRIFFING B., 1956. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. *Australian J. Biol. Sci.*, 9 : 463 - 493.
- GRIFFING B. and LINDSTROM E. W., 1954. A study of the combining abilities of corn inbreds having varying proportions of corn belt and non - corn belt germplasm. *Agron. J.*, 46 : 545 - 556.
- GUO P., ZHANG J., GAN W. and CAI M., 1989. Methods of distance analysis and heterosis. *Acta Genet. Sin.*, 16 : 97 - 104.
- GUPTA S., p. AHMAD Z. and GUPTA R.B., 1989. Combining ability in breadwheat. *Indian J. Genet. Pl. Breed.*, 49 : 25 - 28.
- HAGBERG A. et HAGBERG G., 1980. High frequency of spontaneous haploids in the progeny of an induced mutation in barley. *Hereditas*, 93 : 341 - 343.
- HALLAUER A.R. and MIRANDA J.B., 1981. Quantitative genetics in maize breeding. Iowa State University Press / Ames., 468 p.
- HANIFI-MEKLICHE L., 1983. Etude agronomique, analyses diallèle et cytogénétique de quatre variétés de blé tendre cultivées en Algérie. Thèse de Magister en sciences agronomiques. Option phytotechnie. I.N.A. d'Alger, 150 p.
- HANSON WD, CASAS E., 1968. Spatial relationship among eight populations of *Zea mays* L. utilizing information from a diallel mating design. *Biometrics*, 24, 867 - 880.

- HAYMAN B.I., 1954. The analysis of variance of diallel tables. *Biometrics*, 10 : 235 - 244.
- HEUN M., KENNEDY A.E., ANDERSON J.A., LAPITAN N.L.V., SORRELS M.E. and TANKSLEY S.D., 1991. Construction of a restriction fragment length polymorphism map for barley (*Hordeum vulgare*). *Genome*, 34 : 437 - 447.
- HO K.M. and KASHA K.J., 1975. Genetic control of chromosome elimination during haploid formation in barley. *Genetics*, 81 : 263 - 275.
- HO K.MM., STOKKERMANS N.J., SADLER B.J., MC INTOSH K.C. and HO L. C., 1978. Efficiency of barley haploid production. *Barley Genetics Newsl.*, 10 : 53 - 55.
- HRASKA S., SLEZIAK L., 1981. Genetic characteristics of quantitative characters of spring barley in F₁ generation *Pol'nohospodarstvo*, 27 : 1072 - 1084.
- HUMPHREYS M.W., 1978. Chromosome instability in *Hordeum vulgare* x *H. bulbosum* hybrids. *Chromosoma*, 65 : 301 - 307.
- JATASRA D.S., 1980. Genetic divergence in bread wheat *Triticum aestivum*. *Haryana Agric. Univ. J. Res.*, 10 : 18 - 25.
- JATASRA D.S. and PARODA R.S., 1979. Heterosis and combining ability for synchrony traits in wheat. *Indian J. Genet. Pl. Breed.*, 39 : 521 - 528.
- JATASRA D.S., PARODA R.S. and WALDIA R.S., 1980. Hybrid vigor in an 8 parent diallel cross for yield and its components in wheat. *Haryana Agric. Univ. J. Res.*, 10 : 317 - 323.
- JENSEN J., 1974. Genetic linkage map of barley chromosome 5. I. A procedure to estimate linkage maps applied to literature data. *Barley Genetics Newsl.*, 4 : 40 - 42.
- JENSEN C.J., 1975. Barley monoploids and doubled monoploids : techniques and expérience. *In Barley genetics III. Proceedings of the Third International Barley Genetics. Symposium, Garching, july 1975* : 316 - 345.
- JENSEN C.J., 1982. Haploid production through chromosome elimination in cereal crops. Cell and tissue culture techniques in cereal improvement. *Proc; int. Workshop, Peking 1981. Science Press, Peking China.*
- JENSEN J., JORGENSEN J.H., JENSEN H.P., GIESE H. and DOLL H., 1980. Linkage of the hordein loci Hor 1 and Hor 2 with the powdery mildew resistance loci M1-k and M1-a on barley chromosome 5. *Theor. Appl. Genet.*, 58 : 27 - 31.
- JESTIN L., 1987. Quelques reflexions sur les possibilités de développement de variétés hybrides chez les orges. *I.N.R.A. Clermont-Ferrand*. 4 p.
- JOHNSON L.P.V. and AKSEL R., 1964. The inheritance of malting quality and agronomic characters in a diallel cross of barley. *Can. J. Genet. Cytol.*, 6 : 178 - 200.

JOHNSON V.A., BIEVER K.J., SCHMIDT J.W., 1966. Inheritance of plant height, yield of grain, and other plant and seed characteristics in a cross of Hard Red Winter wheat, *Triticum aestivum* L. Crop. Sci., 6 : 336 - 338.

JOHNSON G.F., WHITTINGTON W.J., 1978. Inheritance of yield components and yield in relation to evidence for heterosis in F₁ barley hybrids. Euphytica, 27 : 587 - 591

JONASSEN I., INGVERSEN J. and BRANDT A., 1981. Synthesis of SPII albumin, β -amylase and chymotrypsin inhibitor CI-1 on polysomes from the endoplasmic reticulum of barley endosperm. Carlsberg Res. Comm., 47 : 199 - 209.

KALASHNIK N.A. et SMYALOVSKAYA Ya. E., 1986. [Breeding and genetical analysis of yield in barley hybrids]. Genetika, USSR 22(7) : 1155 - 1162 (résumé dans Plant. Breeding. Abstract, 1987, vol. 57 n° 6).

KANAZIN V., ANANIEV E. and BLAKE T., 1993. Variability among members of the *Hor 2* multigene family. Genome, 36 : 397 - 403.

KAPALA A., 1981. Variability of electrophoretic subunit patterns of hordein proteins in spring barley (*Hordeum vulgare* L.). Genetica Polonica, 22 : 163 - 177.

KASHA K.J., 1982. Production and applications of haploids in barley. In Actas V Congr. Latinoam. Genetica : 127 - 135.

KASHA K.J. and KAO K.N., 1970. High frequency haploid production in barley (*Hordeum vulgare* L.). Nature, 225 : 874 - 876.

KASHA K.J. and REINBERGS E., 1979. Achievements with haploids in barley research and breeding. In Barley genetics IV. Proceedings of the Fourth International Barley Genetics Symposium, Edinburgh, 215 - 230.

KASHA K.J. and REINBERGS E., 1981. Recent developments in the production and utilization of haploids in barley. In Barley Genetics IV. Proceedings of the Fourth International Barley Genetics Symposium, Edinburgh, 655 - 665.

KASHA K.J., SONG L.S.P., PARK S.J. and REINBERGS E., 1977. Fixation of heterosis : comparison of F₁ hybrids with their respective homozygous lines developed using doubled haploid procedures. Cereal Res. Commun., 5 : 205 - 214.

KASIM M.A., YOUSIF N.K., 1986. [Gene action for grain yield and its components in barley, *Hordeum distichon* L.]. J. Biol. Sci. Res. 17 :121 - 130 (résumé dans Plant Breeding Abstract 1987, 57 n° 6).

KHALIFA M.A., 1980. Inheritance of harvest index in barley. Egyptian J. Genet. and Cytol., 9 : 67 - 79.

KHALIFA M.A. and AL- SAHEAL Y.A., 1984. Inheritance of harvest index in wheat. Cereal Res. Commun., 12 :159-166.

- KHAN N.U.I. and BAJWA M.A., 1989. Potential of hybrid wheat in punjab Pakistan. *Sarhad J. Agric.*, 5 : 381 - 386.
- KIRKMAN M.A., SHEWRY P.R. and MIFLIN B.F., 1982. The effect of nitrogen nutrition of the lysine content and protein composition of barley seeds. *J. Sci. Food Agr.* 33 : 115 – 127.
- KOIE B., INGVERSEN J., ANDERSEN J., DOLL H. and EGGUM B.O., 1976. Composition and nutritional quality of barley proteins. In : Evaluation of seed protein alterations by mutation breeding ; International atomic energy agency (IAEA), Vienna, 55 - 61.
- KONZAK C.F., RANDOLPH L.F. and JENSEN N.F., 1951. Embryo culture of barley species hybrids. *The j. Heredity*, 42 : 125 - 134.
- KRATOCHVIL R.J. and SAMMONS D.J., 1990. A comparison of soft red winter wheat F₂ populations, their F₁ hybrids, and parents. *J. Prod. Agric.*, 3 : 363- 367.
- KREIS M., RAHMAN S., FORDE B.G., PYWELL J., SHEWRY P.R. and MIFLIN B.J., 1983. Sub-families of hordein mRNA encoded at the Hor 2 locus of barley. *Mol. Gen. Genet.*, 191 : 194 - 200.
- KREIS M., WILLIAMSON M.S., FORDE J., CLARKE J., BUXTON B., PYWELL J., GALLOIS P. and SHEWRY P.R., 1987. Structure and regulation of expression of seed protein genes in barley. *Plant Physiol. Biochem.*, 25 : 291 - 302.
- LABUSHANE M.T. and VAN DEVENTER C.S. 1989. The effect of moisture stress on combining ability and heterosis in winter wheat. *Cereal Res. Commun.*, 17 : 179-184.
- LACADENA J.R., 1974. Spontaneous and induced parthenogenesis and androgenesis. In : Haploids in Higher Plants : Advances and Potential. Proceedings of the First International Symposium, University of Guelph, Canada, 13 - 32.
- LAEMMLI U.K., 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227 : 680 - 685.
- LANGE W., 1971 a. Crosses between *Hordeum vulgare* L. and *H. bulbosum* L. I. Production, morphology and meiosis of hybrids, haploids and dihaploids. *Euphytica*, 20 : 14 - 20.
- LANGE W., 1971 b. Crosses between *Hordeum vulgare* L. and *H. bulbosum* L. II. Elimination of chromosomes in hybride tissues. *Euphytica* 20 : 181 – 194.
- LANGE W. et JOCHEMSEN G., 1975. The offspring of diploid, triploid and tetraploid hybrids between *Hordeum vulgare* and *H. bulbosum*. Barley genetics III Proceedings of the Third International Barley Genetics Symposium, Garching, 7 - 12 july 1975, 252 - 259.
- LANGE W. and JOCHEMSEN G., 1976. Karyotypes, nucleoli, and amphiplasty in hybrids between *Hordeum vulgare* L. and *H. bulbosum* L. *Genetica*, 46 : 217 - 233.
- LAPITAN N.L.V., BROWN S.E., KENNARD W., STEPHENS J.L. and KNUDSON D.L., 1997. FISH physical mapping with barley BAC clones. *Plant J.*, 11 : 149 - 156.

- LAURIERE M., BOUCHEZ I., DOYEN C. and EYNARD L., 1996. Identification of glycosylated forms of wheat storage proteins using two-dimensional electrophoresis and blotting. *Electrophoresis*, 17 : 497 – 501.
- LAW C.N., SNAPE J. W., WORLAND A.J., 1978. The genetical relationship between height and yield of wheat. *Heredity*, 40, 133 - 250.
- LEFEBVRE D. and DEVAUX P., 1996. Doubled haploids of a wheat from wheat x maize crosses : genotypic influence, fertility and inheritance of the 1 BL-IRS chromosome. *Theor. Appl. Genet.*, 93 : 1267 - 1273.
- LEFORT - BUSON M., 1986. Heterosis chez le colza oléagineux (*Brassica napus* L.) : analyse génétique et prédiction. Thèse de Docteur ès Sciences Naturelles. Université de Paris-Sud; Centre d'Orsay. 228 p.
- LEHFER H., BUSCH W., MARTIN R. and HERRMANN R.G., 1993. Localization of the B/-hordein locus on barley chromosomes using fluorescence in situ hybridization. *Chromosoma*, 102 : 428 - 432.
- LINDE-LAURSEN I. and DOLL H., 1981. Alleles present in loci Hor 1 and Hor 2 in a pedigree of European barley. *Barley Genet. Newsl.*, 11 : 43 - 45.
- MALECOT G., 1948. Les mathématiques de l'hérédité. Ed. Masson et Cie, 63 p.
- MARCHAIS L., 1978. Une analyse génétique chez le petit mil pénicillaire à l'aide de la distance R^2 de HANSON et CASAS. *Ann. Amélior. Plantes*, 28 : 165 - 193.
- MASLE-MEYNARD J., 1980. L'élaboration du nombre d'épis chez le blé d'hiver. Influence de différentes caractéristiques de la structure du peuplement sur l'utilisation de l'azote et de la lumière. Thèse de Docteur Ingénieur "sciences Agronomiques. Institut National Agronomique. Paris-Grignon. 274 p.
- MATHEWS J.A. and MIFLIN B.J. 1980. The in vitro synthesis of barley storage proteins. *Planta*, 149 : 262 - 268.
- MC DANIEL R.G., 1973. Genetic factors influencing seed vigor : biochemistry of heterosis. *Seed Sci & Technol.*, 1 : 25 - 50.
- MC NEAL F.H., SMITH E.P., BERG M.A., 1974. Plant height, grain yield, and yield component relationships in spring wheat. *Agron. J.*, 66 : 575 - 578.
- MEKLOCHE L. et JEAN R., 1993. Comparaison de la variabilité électrophorétique des hordéines des lignées DH et de plantes F2 issues d'un unique hybride intervariétal d'orge. Séminaire "Tolérance à la sécheresse des céréales en zone méditerranéenne». Diversité génétique et amélioration variétale. Montpellier (France) du 15 au 17 décembre 1992, 383 - 396.
- MILBORROW B.V., 1998. Abiochemical mechanism for hybrid vigour. *J. Exp. Bot.*, 49 : 1063 - 1071

- MONTEMBAULT A., 1982. Etude biochimique et génétique des protéines de l'orge. Application à l'identification des variétés d'orge et de malt. Thèse de docteur de 3ème cycle en sciences alimentaire. Option biochimie et technologie alimentaires - nutrition. Université des sciences et techniques du Languedoc, Académie de Montpellier, 155 p.
- MONTEMBAULT A., AUTRAN J.C. and JOUDRIER P., 1983. Varietal identification of barley and malt. J. Inst. Brew., 89 : 299 - 305.
- MORGAN C.L., AUSTIN R.B., FORD M.A., BINGHAM J., ANGUS W.J., CHOWDHURY S., 1989. An evaluation of F1 hybrid winter wheat genotypes produced using a chemical hybridizing agent. J. Agric. Sci., 112 :143 - 150.
- MORSI L.R., ABO-ELENEIN R.A. and HEGAZI K.F., 1975. Estimation of genetic variance and heritability of head number in barley. Genet. Agr. 29 : 379 - 390.
- NAKASE M., HOTTA H., ADACHI T., AOKI N., NAKAMURA R., MASUMURA T., TANAKA K. and MATSUDA T., 1996. Cloning of the rice seed alpha-globulin incoding gene : sequence similarity of the 5'-flanking region to those of the genes encoding wheat high - molecular - weight glutenin and barley D hordein. Gene, 170 : 223 - 226.
- NASS H.G., 1973. Determination of characters for yield selection in spring wheat. Can. J. Plant. Sci., 53 : 755 - 762.
- NETSVETAEV V.P., BIYASHEV R.M. and SOZINOV A.A., 1985. Mapping the Pgd 2 locus and analysis of linkage between some genetic factors ou chromosome 5 of barley. Genetika, 21 : 295 - 300.
- NIGMATULLIN F.G. and ABDULAMONOV K., 1986. [Study of grain weight per plant by means of diallel analysis in barley.]. Genetika (USSR), 22 : 1143 - 1146 (résumé dans Plant. Breeding. Abstract. 87 vol. 57 n° 6).
- NODA K. and KASHA K.J., 1981 a. Chromosome elimination in triploid hybrids between *Hordeum vulgare* (2x) and *H. bulbosum* (4x). Cereal res. Commun., 9 : 85 - 91.
- NODA K. and KASHA K.J., 1981 b. Chromosome elimination in different meristematic regions of hybrids between *Hordeum vulgare* L. and *H. bulbosum* L. Jpn. J. genet., 56 : 193 - 204.
- ORAM R.N., DOLL H. and KOIE B., 1975. Genetics of two storage protein variants in barley. Hereditas. 80 : 53 - 58.
- OROZCO F., 1987. Overdominance in heterosis : indirect gene action through general resistance to adverse environmments. 206 th Meeting of the Genetical Society of Great Britain.
- OSBORNE T.B., 1895. The proteids of barley. J. Am. Chem ; Soc., 17 : 539 - 567.
- OURY F.X., BRABANT P., PLUCHARD P., BERARD P. et ROUSSET M., 1990 a. Etude multilocale de blés hybrides : niveaux d'hétérosis et élaboration du rendement. agronomie, 10 : 735 - 748.

OURY F.X., KOENIG J., BERARD P. et ROUSSET M., 1990 b. Une comparaison entre des blés hybrides produits par voie chimique et leurs parents : niveaux d'hétérosis et élaboration du rendement. *agronomie*, 10 : 291 - 304.

OURY F.X., TRIBOI E., BERARD P., OLLIER J.L. et ROUSSET M., 1995. Etude des flux de carbone et d'azote chez des blés hybrides et leurs parents, pendant la période de remplissage des grains. *agronomie*, 15 : 193-204.

PARK S.J., WALSH E.J., REINBERGS E., SONG L.S.P. and KASHA K.J., 1976. Field performance of doubled haploid barley lines in comparison with lines developed by pedigree and single seed descent methods. *Can. J. Pl. Sci.*, 56 : 467 - 474.

PEDERSEN C. and LINDE-LAURSEN I., 1995. The relationship between physical and genetic distances at Hor 1 and Hor 2 loci of barley estimated by two colour fluorescent *in situ* hybridization. *Theor. Appl. Genet.*, 91 : 941 - 946.

PELGER S., SALL T. and BENGTSSON B.O., 1993. Evolution of hordein gene organization in three *Hordeum* species. *Hereditas*, 119 : 219 - 231.

PERENZIN M., CORBELLINI M. and BORGHI B., 1987. Growth analysis of ten bread wheat hybrids *Triticum aestivum* produced with a chemical hybridizing agent. *Genet. Agrar.*, 41 : 163 - 172.

PICARD B., BRANLARD G., OURY FX, BERARD P. et ROUSSET M., 1992. Etude de la diversité génétique du blé tendre. II. Application à la prédiction de l'hétérosis. *agronomie*, 12 : 683 - 690.

PICKERING R.A., 1979. Partial incompatibility between *Hordeum vulgare* L. and *H. bulbosum* L. *Incompatibility Newsl.*, 11 : 27 - 29.

PICKERING R.A., 1980. Attempts to overcome partial incompatibility between *vulgare* L. and *H. bulbosum* L. *Euphytica*, 29 : 369 - 377.

PICKERING R.A., 1981. Pollen tube - stylodium interaction in *Hordeum vulgare* L. x *H. bulbosum* L. *In Barley Genetics IV. Proceedings of the Fourth International Barley Genetics Symposium. Edinburgh, 22 - 29 july*, 666 - 676.

PICKERING R.A., 1984. The influence of genotype and environment on chromosome elimination in crosses between *Hordeum vulgare* L. x *Hordeum bulbosum* L. *Plant sci. Lett.*, 34 : 153 - 164.

PICKERING R.A. and HAYES J.D., 1976. Partial incompatibility in crosses between *Hordeum vulgare* L. and *H. bulbosum* L. *Euphytica*, 25 : 671 - 678.

PICKERING R.A. and MORGAN P.W. 1983. Plant regeneration from cultured embryos derived from *Hordeum vulgare* L. pollinated with *H. bulbosum* L. *Euphytica*, 32 : 585 - 591.

PICKERING R.A. and DEVAUX P., 1992. Haploid production: approaches and use in plant breeding. *In* : Barley Genetics, Molecular Biology and Biotechnology. Ed Shewry P.R. CAB Int. Publ., Wallingford, UK, 511 – 539.

POTIER F., 1986. Contribution à l'étude de l'utilisation de l'haploïdie pour l'amélioration de l'orge (*Hordeum vulgare* L.) en comparaison avec des schémas de sélection généalogique et de filiation unipare. Thèse de docteur - ingénieur spécialité : biologie et physiologie végétales. Université de Clermont - Ferrand II, 99 p.

POWELL W., ASHER M.J.C., WOOD W. and HAYTER A.M., 1984. The manipulation of mildew resistance genes in a barley breeding programme by the use of doubled haploids. *Z. Pflanzenzüchtg.*, 93 : 43 - 48.

POWELL W., CALIGARI P.D.S. and HAYTER A.M., 1983. The use of pollen irradiation in barley breeding. *Theor. Appl. Genet.* 62 : 295 - 300.

POWELL W. and CALIGARI P.D.S., 1986. Investigations into the linkage of genes controlling individual quantitative characters in barley. *Can. J. Genet. Cytol.*, 28 : 63 - 68.

RADOVIC D. and VAPA L., 1996. Hordein composition of Yugoslav barley cultivars. *Cereal Res. Commun.*, 24 : 331 - 337.

RAGHUVANSHI K.M.S., SINGH S.P. and RAO S.K., 1989. Parental diversity in relation to heterosis for yield and its components in wheat. *Crop Improv.* 16, : 182 - 184.

RECHINGER K.B., BOUGI O.V., and CAMERON-MILLS V., 1993 a. Evolutionary relationships of the members of the sulphur-rich hordein family revealed by common antigene determinants. *Theor. Appl. Genet.*, 85 : 829 - 840.

RECHINGER K.B., SIMPSON D.J., SVENDSEN I. and CAMERON-MILLS V., 1993 b. A role for $\gamma 3$ hordein in the transport and targeting of prolamin polypeptides to the vacuole of developing barley endosperm. *Plant J.*, 4 : 841 - 853.

REINBERGS E., PARK S.J. and SONG L.S.P., 1976. Early identification of superior barley crosses by the doubled haploid technique. *Z. Pflanzenzüchtg.* 76 : 215 - 224.

ROGERS S.W., BURK S.M. and ROGERS I.C., 1996. Monoclonal antibodies to barley aleurain and homologs from other plants. *Plant J.*, 11 : 1359 - 1368.

SAGE G.C.M. and HOBSON G.E., 1973. The use of mitochondrial complementation as an indicator of yield heterosis in breeding hybrid wheat. *Euphytica*, 22 : 61 - 69.

SAIANOVA S.L., MEKHEDOV S.L., BURKITBAEV E.M., SHIKOVA N.T. and ANAN'EV E.V., 1994. Structural organization of C-hordein genes from barley. *Genetika*, 30 : 749 - 755.

SALCEDO G., SANCHEZ-MONGE R., ARGAMTERIA A. and ARAGONCILLO C., 1980. The A-hordeins as a group of salt soluble hydrophobic proteins. *Plant Sci. Lett.*, 19 : 109 - 119.

- SALEEM M. and HUSSAIN S. 1988. Estimation of heterosis in yield components of wheat. Pak. J. Agric. Res., 9 : 1 - 5.
- SAN NOEUM L.H., 1976. Haploïdes d'*Hordeum vulgare* L. par culture in vitro d'ovaires non fécondés. Ann. Amélior. Plantes, 26 : 751 - 754.
- SARKISSIAN I.V., 1972. Mitochondrial polymorphism and heterosis. Z. Pflanzenzücht., 67 : 53 - 54.
- SARRAFI A., ECOCHARD R., PLANCHON C. and ALI-SADIQ M., 1986. Genetic gain for some agronomical characters by dihaploid breeding in barley. Genetic manipulation in plant breeding. Ed. Horn, Jensen, Odenbach, Schieder, 1986. Walter de Gruyter & Co., Berlin, New York, 343 - 345.
- SCHOLZ F. and KUNZEL G., 1986. Hybrid barley-problems and advance, especially in developing genetic systems. Fifth International Barley Genetics Symposium Abstracts. Okayama, Japan october 6 - 11, 1986, 242.
- SCHON C., SANCHEZ M., BLAKE T. and HAYES P.M., 1990. Segregation of mendelian markers in doubled haploid and F2 progeny of barley cross. Hereditas, 113 : 69 - 72.
- SEN D., 1981. An evaluation of mitochondrial heterosis and in vitro mitochondrial complementation in wheat, barley and maize. Theor. Appl. Genet., 59 : 153 - 160.
- SETHI S.J., PARODA R.S. and SINGH D., 1986. Genetics of harvest index and its components in barley. Crop Improv., 13 : 206 - 208.
- SETHI S.K., PARODA R.S. and SINGH D., 1987. Combining ability for harvest index and grain yield in barley. Crop improv., 14 : 157 - 159.
- SHARMA S.K., SINGH I. and SINGH K.P., 1986. Heterosis and combining ability in wheat *Triticum aestivum*. Crop Improv., 13 : 101 - 103.
- SHEWRY P.R. and MIFLIN B.J., 1982. Genes for the storage proteins of barley. Qualitas Plantarum. Plant Foods for Human Nutrition, 31 : 251 - 267.
- SHEWRY P.R. and MIFLIN B.J., 1983. Characterization and synthesis of barley seed proteins. In Seed proteins: Biochemistry, Genetics, Nutritive value. Eds. W. GOTTSCHALK, H.P. MULLER. MARTINUS NIJHOFF/ Dr W. JUNK Publishers, The Hague, 143 - 205.
- SHEWRY P.R. and TATHAM A.S., 1990. The prolamin storage proteins of cereal seeds : structure and evolution. Biochem. J., 267 : 1 - 12.
- SHEWRY P.R., LEW J.-L. and KASARDA D.D., 1981. Structural homology of storage proteins coded by the Hor 1 locus of barley (*Hordeum vulgare* L.). Planta, 153 : 246 - 253.
- SHEWRY R.R., FAULKS A.J., PARMAR S. and MIFLIN B.J., 1980 a. Hordein polypeptide pattern in relation to malting quality and the varietal identification of malted barley grain. J. Inst. Brew., 86 : 138 - 141.

- SHEWRY P.R., FAULKS A.J., PICKERING R.A., JONES I.T., FINCH R.A. and MIFLIN B.J., 1980 b. The genetic analysis of barley storage proteins. *Heredity*, 44 : 383 - 389.
- SHEWRY P.R., FIELD J.M., KIRKMAN M.A., FAULKS A.J. and MIFLIN B.J., 1980 c. The extraction, solubility and characterization of two groups of barley storage polypeptides. *J. Exp. Bot.*, 31 : 393 - 407.
- SHEWRY P.R., FINCH R.A., PARMAR S., FRANKLIN J. and MIFLIN B.J., 1983. Chromosomal location of Hor 3, a new locus governing storage proteins in barley. *Heredity*. 50 : 179 - 189.
- SHEWRY P.R., BUNCE N.A.C., KREIS M. and FORDE B.G., 1985 a. Polymorphism at the Hor 1 locus of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Biochem. Genet.*, 23 : 391 - 404.
- SHEWRY P.R., KREIS M., PARMAR S., LEW E.J.-L. and KASARDA D.D., 1985 b. Identification of γ -type hordeins in barley. *FEBS Lett.*, 190 : 61 - 64.
- SHEWRY P.R., PARMAR S., FRANKLIN J., and WHITE R., 1988. Mapping and biochemical analysis of Hor 4 (Hrd G), a second locus encoding B hordein seed proteins in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Genet. Res.*, 51 : 5 - 12.
- SHEWRY P.R., PARMAR S., FRANKLIN J. and BURGESS S.R., 1990. Analysis of a rare recombination event within the multigenic Hor 2 locus of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Genet. Res.*, 55 : 171 - 176.
- SIEDLER H. and GRANER A., 1991. Construction of physical maps of the Hor 1 locus of two barley cultivars. *Mol. Gen. Genet.*, 226 : 177 - 181.
- SIMPSON E., SNAPE J.W. and FINCH R.A., 1980. Variation between *Hordeum bulbosum* genotypes in their ability to produce haploids of barley, *Hordeum vulgare*. *Z. Pflanzenzüchtg.*, 85 : 205 - 211.
- SINGH I. and BEHL R.K., 1991. Genetic divergence in relation to combining ability and transgression in wheat. *J. Genet. Breed.*, 45 (2) : 147 - 150.
- SINGH D., BEHL R.K. and SRIVASTAVA R.B., 1981. Inheritance of plant height in barley. *Cereal Res. Commun.*, 9 : 131 - 132.
- SINGH T. and MISHRA D.P., 1990. Heterosis and inbreeding depression in bread wheat *Triticum aestivum* L. EM. Thell. Narendra Deva J. Agric. Res., 5 : 128 - 131.
- SNAPE J.W., SIMPSON E., 1981. The genetical expectations of doubled haploid lines derived from different filial generations. *Theor. Appl. Genet.*, 60 : 123 - 124.
- SNAPE J.W., WRIGHT A.J. and SIMPSON E., 1984. Methods of estimating gene numbers for quantitative characters using doubled haploid lines. *Theor. Appl. Genet.*, 67 : 143 - 148.
- SOKAL R.R., ROHLF F.J. and FREEMAN, 1981. Tests of independence : two-way tables. *In* *Biometry*, 2ème edition, 745 - 746.

- SONG L.S.P., PARK S.J., REINBERGS E., CHOO T.M. and KASHA K.J., 1978. Doubled haploid vs the bulk plot method for production of homozygous lines in barley. *Z. Pflanzenzüchtg.*, 81 : 271 - 280.
- SRIVASTAVA P.S. et ARUNACHALAM V., 1977. Heterosis as function of genetic divergence in triticale. *Pflanzenzücht.* 78 : 269 – 275.
- SRIVASTAVA R.B., YADAV B. and SINGH V.P., 1985. Gene system governing the migration coefficient in durum wheat (*Triticum durum*). *Cereal Res. Commun.* 13 : 39 - 46.
- SUBRAHMANYAM N.C. and KASHA K.J., 1973. Selective chromosomal elimination during haploid formation in barley following interspecific hybridization. *Chromosoma*, 42 : 111 - 125.
- SUN J., LU T. and XIN H., 1995. [Induction of haploid durum wheat plants through pollination with maize pollen]. *Acta Botanica Sinica*, 37 (6) : 452 - 457. (résumé dans *Plant Breeding Abstract* 1997 vol. 67 n°3).
- SURMA M. and ADAMSKI T., 1982. Diallel analysis of the yield structure components in spring barley (*Hordeum vulgare* L.). *Genetica Polonica*, 23 : 41 - 50.
- TALEB Gh., 1983. Analyse cytogénétique des plantes androgénétiques doublées spontanément de *Triticum aestivum* L. Thèse de docteur de 3ème cycle. Université de Paris - Sud., Centre d'Orsay. 88 p.
- TAPSELL C.R. and THOMAS W.T.B., 1983. Cross prediction studies on spring barley. 2. Estimation of genetical and environmental control of yield and its component characters. *Theor. Appl. Genet.*, 64 : 354 - 358.
- THEVENIN L., 1968. Les problèmes d'amélioration chez *Asparagus officinalis* L. II. Haploïdie et Amélioration. *Ann. Amélior. Plantes*, 18 : 327 -365.
- THOMAS W.T.B. and TAPSELL C.R., 1983. Cross prediction studies on spring barley. 1. Estimation of genetical and environmental control of morphological and maturity characters. *Theor. Appl. Genet.*, 64 : 345 - 352.
- TUBEROSA R., SANGUINETI M.C. and CONTI S., 1986. Divergent selection for heading date in barley. *Plant breeding*, 97 : 345 - 351.
- TURCOTTE P., ST-PIERRE C.A. et HO K.M., 1980. Comparaison entre des lignées pedigrees et des lignées haploïdes doublées chez l'orge (*Hordeum vulgare* L.). *Can. J. Plant Sci.*, 60 : 79 - 85.
- UDDIN M.N., ELLISON F.W., O'BRIEN L. and LATTER B.D.H., 1992. Heterosis in F₁ hybrids derived from crosses of adapted australian wheats. *Aust. J. Agric. Res.*, 43 : 907 - 919.

- VICENTE - CARBAJOSA J., BERITASHVILI D.R., KRAEV A.S. and SKRYBIN K.G., 1992. Conserved structure and organization of B hordein genes in the Hor 2 locus of barley. *Plant Mol. Biol.*, 18 : 453 - 458.
- VITKARE D.G. and ATALE S.B., 1991. Studies on heterosis for the yield attributes in 15 x 15 diallel in wheat *Triticum - aestivum* L. Punjabrao Krishi Vidyapee TH, Res. J., 15 : 111 - 116.
- WANG Z., GUO B., LI H., SUN J., LIU H. and WANG J., 1996. [Haploïd wheat induced by crosses between different ploidy wheat and different populations of maize]. *Acta Botanica Sinica*, 38 : 414 - 416. (résumé dans *Plant Breeding Abstract*. 1997 vol. 67 n° 12).
- WHEATLEY W.G. and KASHA K.J., 1982. Chromosome elimination in bi-nucleate cells of a (2x) *H. vulgare* x (2x) *H. bulbosum* hybrid. *Barley Genetics Newsl.*, 12 : 74 - 77.
- XIAO J., LI J., YUAN L., MCCOUCH S.R., TANKSLEY S.D., 1996a. Genetic diversity and its relationship to hybrid performance and heterosis in rice as revealed by PCR-based markers. *Theor. Appl. Genet.*, 92 : 637-643.
- YAP T.C. and HARVEY B.L. 1972. Inheritance of yield components and morpho-physiological traits in barley, *Hordeum vulgare* L. *Crop science*, 12 : 283 - 286.
- ZHANG Q., GAO Y.J., YANG S.H., RAGAB R.A., SAGHAI MAROOF M.A., LI Z.B., 1994. Adiallel analysis of heterosis in elite hybrid rice basec on RFLPs and microsatellites. *Theor. Appl. Genet.*, 89 : 185 - 192.
- ZIVY M., DEVAUX P., BLAISONNEAU J, JEAN R. et H. THIELLEMENT, 1992. Segregation distortion and linkage studies in microspore derived double-haploid lines of *Hordeum vulgare* L. *Theor. Appl. Genet.*, 83 : 919 - 924.

Nombre de références bibliographiques : 239

ANNEXE

ANNEXE

Tableau 1 : Moyennes des caractères rendement en grain, rendement en paille, indice de récolte, nombre d'épis par plante, poids des grains du maître-brin, poids de 1000 grains, nombre de grains, longueur de l'épi et hauteur de la tige des F₁

| génotypes | moyennes | | | | | | | | |
|-----------|--------------|--------------|-------------|--------------|-------------|--------------|-------|--------------|--------------|
| | RDTGR | RDTPA | IR | EPI | PDSGR | PMG | NBRGR | LONGE | HAUT |
| 3/6 | 16,34 | 18,95 | 0,35 | 8,41 | 2,29 | 42,63 | 61,55 | 9,42 | 65,67 |
| 3/13 | 20,07 | 31,14 | 0,35 | 10,95 | 3,14 | 45,86 | 64,79 | 9,94 | 83,20 |
| 3/14 | 23,32 | 28,21 | 0,43 | 10,67 | 2,84 | 42,14 | 67,86 | 10,24 | 74,64 |
| 3/15 | 28,76 | 28,10 | 0,43 | 9,51 | 3,46 | 42,70 | 76,21 | 10,75 | 82,92 |
| 3/16 | 23,42 | 27,34 | 0,43 | 9,80 | 3,18 | 51,96 | 69,12 | 9,13 | 78,50 |
| 3/17 | 17,09 | 23,43 | 0,39 | 9,75 | 3,31 | 56,04 | 63,82 | 9,54 | 87,85 |
| 3/18 | 22,21 | 30,19 | 0,37 | 9,92 | 2,79 | 42,03 | 59,94 | 9,76 | 85,18 |
| 6/13 | 18,49 | 24,82 | 0,37 | 9,75 | 2,66 | 39,02 | 62,58 | 9,87 | 77,12 |
| 6/14 | 19,14 | 23,86 | 0,38 | 11,53 | 3,61 | 47,04 | 68,83 | 9,82 | 78,42 |
| 6/15 | 22,17 | 26,48 | 0,43 | 10,36 | 2,91 | 43,90 | 69,06 | 10,31 | 79,33 |
| 6/16 | 16,31 | 23,34 | 0,35 | 9,47 | 2,85 | 42,77 | 66,53 | 9,72 | 77,68 |
| 6/17 | 18,64 | 26,26 | 0,36 | 9,59 | 2,66 | 44,98 | 70,28 | 8,54 | 74,96 |
| 6/18 | 21,29 | 29,40 | 0,39 | 9,73 | 3,53 | 55,04 | 65,25 | 9,29 | 80,79 |
| 13/14 | 21,65 | 20,81 | 0,40 | 9,46 | 2,84 | 42,22 | 66,83 | 9,50 | 75,36 |
| 13/15 | 22,15 | 24,51 | 0,42 | 10,58 | 3,24 | 45,36 | 70,90 | 9,55 | 74,70 |
| 13/16 | 21,10 | 23,02 | 0,40 | 9,16 | 3,80 | 53,22 | 72,90 | 9,13 | 84,46 |
| 13/17 | 25,29 | 25,85 | 0,45 | 10,33 | 3,57 | 48,70 | 73,45 | 8,26 | 86,66 |
| 13/18 | 26,36 | 30,74 | 0,42 | 10,32 | 3,88 | 58,90 | 66,25 | 9,18 | 87,96 |
| 14/15 | 27,37 | 21,01 | 0,45 | 8,72 | 3,37 | 41,65 | 75,33 | 8,99 | 77,63 |
| 14/16 | 22,70 | 30,30 | 0,46 | 11,08 | 3,20 | 38,86 | 73,96 | 9,35 | 78,81 |
| 14/17 | 16,20 | 18,92 | 0,42 | 8,76 | 2,98 | 42,23 | 70,45 | 8,52 | 77,30 |
| 14/18 | 20,01 | 24,23 | 0,41 | 8,65 | 3,23 | 42,25 | 66,98 | 8,89 | 81,32 |
| 15/16 | 27,68 | 26,74 | 0,47 | 10,11 | 3,73 | 41,33 | 81,99 | 9,55 | 80,07 |
| 15/17 | 25,69 | 23,04 | 0,47 | 9,83 | 3,86 | 45,94 | 82,59 | 8,48 | 77,87 |
| 15/18 | 22,44 | 28,07 | 0,39 | 9,25 | 3,45 | 57,25 | 69,04 | 8,97 | 83,36 |
| 16/17 | 17,05 | 17,11 | 0,45 | 7,28 | 3,31 | 44,60 | 75,68 | 7,68 | 73,30 |
| 16/18 | 16,59 | 24,82 | 0,37 | 7,81 | 3,37 | 52,52 | 64,00 | 9,10 | 88,59 |
| 17/18 | 26,55 | 27,03 | 0,45 | 9,53 | 3,82 | 55,31 | 71,33 | 9,35 | 88,49 |
| ppds | 9,36 | 8,70 | 0,09 | - | 0,55 | 6,09 | 9,05 | 0,86 | 7,66 |

Tableau 2 : Moyennes des caractères nombre d'entre-noeuds, stade épiaison et progression verticale de l'oïdium des F₁.

| génotypes | moyennes | | | |
|-----------|-------------|---------------|------------------------------|--------------------------|
| | ENTRN | EPLAI | OID valeurs angulaires | OID notes de 0 à 5 |
| 3/6 | 5,86 | 119,72 | 24,04 | 0,00 |
| 3/13 | 6,09 | 114,61 | 24,04 | 0,00 |
| 3/14 | 6,15 | 112,22 | 24,04 | 0,00 |
| 3/15 | 6,07 | 113,86 | 27,52 | 0,29 |
| 3/16 | 5,99 | 113,10 | 25,90 | 0,15 |
| 3/17 | 5,81 | 108,92 | 29,15 | 0,42 |
| 3/18 | 6,75 | 118,24 | 27,52 | 0,29 |
| 6/13 | 5,91 | 112,47 | 53,07 | 2,83 |
| 6/14 | 5,86 | 114,74 | 37,51 | 1,22 |
| 6/15 | 5,78 | 111,70 | 50,11 | 2,53 |
| 6/16 | 5,84 | 111,42 | 49,59 | 2,48 |
| 6/17 | 5,76 | 110,39 | 54,93 | 3,02 |
| 6/18 | 6,33 | 117,31 | 54,70 | 2,93 |
| 13/14 | 5,87 | 111,76 | 36,35 | 1,10 |
| 13/15 | 5,98 | 109,28 | 44,48 | 1,95 |
| 13/16 | 5,74 | 108,57 | 56,56 | 3,17 |
| 13/17 | 5,95 | 108,33 | 49,81 | 2,50 |
| 13/18 | 5,98 | 112,13 | 51,44 | 2,66 |
| 14/15 | 5,97 | 113,09 | 44,71 | 1,97 |
| 14/16 | 5,73 | 105,30 | 49,21 | 2,44 |
| 14/17 | 6,03 | 107,77 | 44,71 | 1,97 |
| 14/18 | 6,31 | 117,31 | 36,35 | 1,10 |
| 15/16 | 5,71 | 109,17 | 53,07 | 2,83 |
| 15/17 | 5,65 | 108,17 | 53,07 | 2,83 |
| 15/18 | 6,24 | 114,68 | 49,82 | 2,50 |
| 16/17 | 5,63 | 105,89 | 53,07 | 1,63 |
| 16/18 | 6,09 | 113,06 | 53,07 | 2,83 |
| 17/18 | 6,43 | 110,81 | 51,44 | 2,66 |
| ppds | 0,35 | 2,79 | 12,23 | |

Tableau 3 : ASC pour les caractères rendement en grain, rendement en paille, indice de récolte, nombre d'épis par plante, poids des grains du maître-brin, nombre de grains, poids de 1000 grains et longueur de l'épi.

| génotypes | ASC | | | | | | | |
|-----------|---------------|--------------|--------------------------------|---------------|------------------------|---------------|---------------------|------------------------|
| | RDTGR | RDTPA | IR | EPIS | PDSGR | PMG | NBRGR | LONGE |
| 3/6 | -2,198 | -7,24 | - 0,56. 10 ⁻³ | -1,694 | -0,29 | -2,000 | - 5,26 | -0,77 |
| 3/13 | -2,262 | 2,24 | -30,56. 10⁻³ | 0,563 | -0,05 | -3,056 | 0,77 | 0,02 |
| 3/14 | 1,795 | 2,68 | 27,28. 10 ⁻³ | 0,560 | 0,77. 10 ⁻² | 1,735 | 1,75 | 0,25 |
| 3/15 | 3,368 | 1,58 | 7,19. 10 ⁻³ | -0,518 | 0,27 | 0,923 | 5,77 | -0,16 |
| 3/16 | 2,800 | 1,58 | 26,44. 10 ⁻³ | 0,387 | 0,19 | -2,343 | 0,69 | 0,83 |
| 3/17 | -3,808 | -0,99 | -23,31. 10 ⁻³ | 0,277 | -0,03 | 3,964 | - 3,60 | 0,05 |
| 3/18 | 0,305 | 0,15 | - 6,56. 10 ⁻³ | 0,424 | -0,10 | 0,777 | - 0,12 | -0,22 |
| 6/13 | -0,705 | -0,32 | 7,78. 10 ⁻³ | -0,613 | -0,04 | -1,266 | 9. 10 ⁻³ | 0,15 |
| 6/14 | 0,759 | 0,43 | - 6,89. 10 ⁻³ | 1,453 | 0,18 | 1,087 | 4,17 | 0,21 |
| 6/15 | -0,080 | 2,05 | 29,03. 10 ⁻³ | 0,369 | -0,08 | 0,255 | 0,06 | 0,65 |
| 6/16 | -1,168 | -0,32 | -28,72. 10 ⁻³ | 0,086 | -0,06 | 0,202 | - 0,46 | 0,13 |
| 6/17 | 0,880 | 3,94 | -30,47. 10 ⁻³ | 0,141 | -0,19 | -0,537 | - 5,18 | -0,23 |
| 6/18 | -1,168 | -2,66 | 29,78. 10⁻³ | 0,257 | 0,48 | 2,26 | 6,65 | -0,15 |
| 13/14 | -0,534 | -3,63 | -10,39. 10 ⁻³ | -0,903 | -0,23 | -0,173 | - 3,01 | 0,10 |
| 13/15 | -3,893 | -0,94 | -12,97. 10 ⁻³ | 0,297 | -0,34 | -2,576 | - 3,27 | 0,15 |
| 13/16 | -0,169 | -1,66 | -10,22. 10 ⁻³ | -0,510 | 0,29 | 6,363 | 0,73 | -0,20 |
| 13/17 | 3,759 | 2,52 | 29,03. 10 ⁻³ | 0,599 | 0,13 | -1,113 | 2,30 | -0,24 |
| 13/18 | 3,804 | 1,79 | 27,28. 10 ⁻³ | 0,566 | 0,23 | 1,822 | 2,46 | 8,26. 10 ⁻³ |
| 14/15 | 2,137 | -3,39 | - 9,14. 10 ⁻³ | -1,275 | 0,15 | 2,222 | - 0,93 | -0,46 |
| 14/16 | 2,235 | 7,33 | 24,61. 10 ⁻³ | 1,686 | 0,05 | 0,514 | - 0,29 | 0,040 |
| 14/17 | -4,545 | -2,69 | -20,14. 10 ⁻³ | -0,693 | 0,11 | 0,931 | - 2,8 | 0,27 |
| 14/18 | -1,847 | -0,71 | - 5,39. 10 ⁻³ | -0,827 | -0,06 | -6,316 | 1,11 | -0,34 |
| 15/16 | 3,346 | 0,47 | 14,03. 10 ⁻³ | 0,801 | 0,08 | -2,726 | 3,40 | 0,16 |
| 15/17 | 1,076 | 1,113 | 6,28. 10 ⁻³ | 0,466 | 0,27 | -1,074 | 5,02 | -0,08 |
| 15/18 | -3,176 | -0,46 | -34,47. 10 ⁻³ | -0,141 | -0,35 | 3,547 | -10,05 | -0,26 |
| 16/17 | -2,792 | -4,74 | 11,53. 10 ⁻³ | -1,481 | -0,22 | -1,332 | 0,12 | -0,81 |
| 16/18 | -4,251 | -2,66 | -37,72. 10 ⁻³ | -0,969 | 0,32 | -0,678 | -4,20 | -1,49 |
| 17/18 | 5,430 | 086 | 27,03. 10 ⁻³ | 0,690 | 0,15 | -0,84 | 4,14 | 1,03 |

Tableau 4 : ASC pour les caractères hauteur de la tige, nombre d'entre-nœuds, épaisseur et progression verticale de l'oïdium.

| génotypes | ASC | | | |
|-----------|-------------|------------------------|------------------------|---------------|
| | HAUT | ENTRN | EPIAI | OID |
| 3/6 | -9,55 | -0,17 | 2,55 | -2,895 |
| 3/13 | 1,85 | 0,03 | 0,88 | -1,307 |
| 3/14 | -0,82 | 0,02 | -2,35 | 5,838 |
| 3/15 | 1,42 | 0,03 | -0,33 | 0,785 |
| 3/16 | 3,52 | 0,06 | 1,14 | -3,560 |
| 3/17 | 0,56 | -0,21 | -1,99 | 0,399 |
| 3/18 | 3,02 | 0,25 | 0,11 | 0,745 |
| 6/13 | 5,57 | 0,07 | -0,78 | 3,879 |
| 6/14 | 3,40 | -0,04 | 0,65 | -4,529 |
| 6/15 | 4,08 | -0,03 | -2,01 | -0,470 |
| 6/16 | -0,97 | 0,13 | -0,05 | -3,722 |
| 6/17 | -1,24 | -0,03 | -0,04 | 2,340 |
| 6/18 | -2,29 | 0,06 | -0,33 | 4,076 |
| 13/14 | -4,49 | -0,06 | 1,11 | -4,103 |
| 13/15 | -6,68 | 0,12 | -0,99 | -4,516 |
| 13/16 | 0,67 | 4,93. 10 ⁻³ | 0,53 | 4,838 |
| 13/17 | 4,32 | 0,13 | 1,33 | -1,308 |
| 13/18 | -1,26 | -0,31 | -2,09 | 2,410 |
| 14/15 | 2,14 | 0,06 | 1,97 | 2,859 |
| 14/16 | 0,91 | -0,07 | -3,58 | 4,637 |
| 14/17 | 0,86 | 0,14 | -0,07 | 0,847 |
| 14/18 | -2,00 | -0,051 | 2,26 | -5,533 |
| 15/16 | 1,55 | 3,27. 10 ⁻³ | 0,66 | -0,041 |
| 15/17 | -0,10 | -0,15 | 0,69 | 0,674 |
| 15/18 | -1,49 | -0,04 | 4,93. 10 ⁻³ | -0,606 |
| 16/17 | -7,09 | -0,06 | 0,67 | -2,054 |
| 16/18 | 1,33 | -0,06 | 0,63 | -0,081 |
| 17/18 | 2,69 | 0,17 | -0,59 | -0,991 |

Tableau 5 : Estimation des variances des effets d'ASC et d'AGC des caractères rendement en grain (1), rendement en paille (2), indice de récolte (3), poids des grains du maître-brin (4) et nombre de grains (5).

| Parents | Variables | $\hat{\sigma}_i^2$ | $\hat{\sigma}_g^2$ | Base moyenne |
|---------|-----------|------------------------|-----------------------|-----------------------|
| 3 | 1 | 6,78 | -1,36 | 8,79 |
| | 2 | 10,63 | 1,06 | 9,48 |
| | 3 | 11,52.10 ⁻⁵ | 2,29.10 ⁻⁴ | 1,08.10 ⁻³ |
| | 4 | 0,02 | 0,016 | 0,04 |
| | 5 | 9,28 | 15,79 | 10,42 |
| 6 | 1 | 1,35 | -69,62 | 8,79 |
| | 2 | 11,30 | -0,65 | 9,48 |
| | 3 | 21,12.10 ⁻⁵ | 13,6.10 ⁻⁴ | 1,08.10 ⁻³ |
| | 4 | 0,05 | 0,25 | 0,04 |
| | 5 | 15,60 | 29,98 | 10,42 |
| 13 | 1 | 7,23 | 0,52 | 8,79 |
| | 2 | 4,11 | 0,23 | 9,48 |
| | 3 | 10,63.10 ⁻⁵ | 0,22.10 ⁻⁴ | 1,08.10 ⁻³ |
| | 4 | 0,04 | 2,34.10 ⁻³ | 0,04 |
| | 5 | 1,65 | -1,33 | 10,42 |
| 14 | 1 | 5,24 | -0,74 | 8,79 |
| | 2 | 14,47 | 0,36 | 9,48 |
| | 3 | 29,85.10 ⁻⁵ | 1,44.10 ⁻⁴ | 1,08.10 ⁻³ |
| | 4 | 6,75 | 0,07 | 0,04 |
| | 5 | 2,86 | 1,23 | 10,42 |
| 15 | 1 | 7,87 | 15,15 | 8,79 |
| | 2 | 2,9 | 0,31 | 9,48 |
| | 3 | 4,11.10 ⁻⁵ | 9,16.10 ⁻⁴ | 1,08.10 ⁻³ |
| | 4 | 0,055 | 0,05 | 0,04 |
| | 5 | 26,82 | 34,35 | 10,42 |
| 16 | 1 | 7,50 | 0,32 | 8,79 |
| | 2 | 13,68 | 1,85 | 9,48 |
| | 3 | 27,72.10 ⁻⁵ | 0,45.10 ⁻⁴ | 1,08.10 ⁻³ |
| | 4 | 0,034 | 0,02 | 0,04 |
| | 5 | 1,36 | 34,37 | 10,42 |
| 17 | 1 | 13,70 | 1,59 | 8,79 |
| | 2 | 7,97 | 6,13 | 9,48 |
| | 3 | 21,65.10 ⁻⁵ | 3,93.10 ⁻⁴ | 1,08.10 ⁻³ |
| | 4 | 0,02 | 6,34 | 0,04 |
| | 5 | 12,16 | 7,29 | 10,42 |
| 18 | 1 | 12,61 | 0,09 | 8,79 |
| | 2 | 1,18 | 10,80 | 9,48 |
| | 3 | 45,34.10 ⁻⁵ | 1,19.10 ⁻⁴ | 1,08.10 ⁻³ |
| | 4 | 0,08 | 0,09 | 0,04 |
| | 5 | 27,49 | 17,78 | 10,42 |

σ^2 = base moyenne

$$\hat{\sigma}^2_{si} = \frac{1}{p-2} \sum \hat{S}_{ij}^2 - \frac{p-3}{p-2} \hat{\sigma}^2 \quad \text{où } S_{ij} = \text{ASC des différents croisements (Griffing et Lindstrom, 1954)}$$

$$\hat{\sigma}_i^2 = (\hat{g}_i)^2 - \frac{p-1}{p(p-2)} \hat{\sigma}^2$$

Tableau 6 : Estimation des variances des effets d'ASC et d'AGC pour les variables poids de 1000 grains (1), longueur de l'épi (2), hauteur de la tige (3), nombre d'entre-nœuds (4) et épaisseur (5) et progression verticale de l'oïdium (6).

| Parents | Variables | $\hat{\sigma}_i^2$ | $\hat{\sigma}_{g_i}^2$ | Base moyenne (σ^2) |
|---------|-----------|--------------------------|------------------------|-----------------------------|
| 3 | 1 | 1,75 | 0,60 | 4,72 |
| | 2 | 201,53.10 ⁻³ | 0,34 | 0,09 |
| | 3 | 17,1813 | 1,34 | 7,47 |
| | 4 | 1694,79.10 ⁻⁵ | 0,02 | 0,02 |
| | 5 | 2,68 | -0,09 | 0,99 |
| | 6 | 2,89 ns | 399,28 | 14,54 |
| 6 | 1 | 0,22 | 6,64 | 4,72 |
| | 2 | 159,61.10 ⁻³ | 0,06 | 0,09 |
| | 3 | 23,6878 | 9,79 | 7,47 |
| | 4 | 410,04.10 ⁻⁵ | 5,70.10 ⁻³ | 0,02 |
| | 5 | 1,59 | 5,49 | 0,99 |
| | 6 | 6,55 ns | 11,13 | 14,54 |
| 13 | 1 | 8,61 | 1,92 | 4,72 |
| | 2 | -8,59.10 ⁻³ | -0,01 | 0,09 |
| | 3 | 17,33 | 6,93 | 7,47 |
| | 4 | 1710,56.10 ⁻⁵ | 1,20.10 ⁻³ | 0,02 |
| | 5 | 1,31 | 0,98 | 0,99 |
| | 6 | 7,35ns | 5,02 | 14,54 |
| 14 | 1 | 4,67 | 39,91 | 4,72 |
| | 2 | 52,98.10 ⁻³ | -9,85.10 ⁻³ | 0,09 |
| | 3 | 4,42 | 8,27 | 7,47 |
| | 4 | -9,98.10 ⁻⁵ | -2,33.10 ⁻³ | 0,02 |
| | 5 | 4,48 | -0,09 | 0,99 |
| | 6 | 15,27 ns | 27,22 | 14,54 |
| 15 | 1 | 0,72 | 0,21 | 4,72 |
| | 2 | 95 76.10 ⁻³ | -9,6.10 ⁻³ | 0,09 |
| | 3 | 9 43 | 1,24 | 7,47 |
| | 4 | 126 20.10 ⁻⁵ | 3,69.10 ⁻³ | 0,02 |
| | 5 | 1 31 | 0,21 | 0,99 |
| | 6 | 5 81 ns | 13,29 | 14,54 |
| 16 | 1 | 6,54 | 2,44 | 4,72 |
| | 2 | 571,66.10 ⁻³ | -0,01 | 0,09 |
| | 3 | 8,83 | -0,31 | 7,47 |
| | 4 | -36,63.10 ⁻⁵ | 0,03 | 0,02 |
| | 5 | 2,26 | 7,86 | 0,99 |
| | 6 | 5,81 ns | 42,57 | 14,54 |
| 17 | 1 | -0,54 | 0,72 | 4,72 |
| | 2 | 281,89.10 ⁻³ | 0,69 | 0,09 |
| | 3 | 10,46 | -0,76 | 7,47 |
| | 4 | 1661,97.10 ⁻⁵ | 8,01.10 ⁻³ | 0,02 |
| | 5 | 0,82 | 14,84 | 0,99 |
| | 6 | -4,51 ns | 32,10 | 14,54 |
| 18 | 1 | 6,71 | 70,67 | 4,72 |
| | 2 | 551,52.10 ⁻³ | 0,01 | 0,09 |
| | 3 | 2,53 | 38,66 | 7,47 |
| | 4 | 585,71.10 ⁻⁵ | 0,14 | 0,02 |
| | 5 | 1,37 | 10,99 | 0,99 |
| | 6 | -4,51 ns | 13,58 | 14,54 |

Tableau 7 : Hétérosis relatif en % du parent moyen et du meilleur parent des caractères rendement en grain, rendement en paille, indice de récolte et nombre d'épis par plante

| Géotypes | Caractères | | | | | | | |
|----------|--------------|---------------|--------------|---------------|--------------|--------------|---------------|---------------|
| | RDTGR | | RDTPA | | IR | | EPIS | |
| | P.moy. | P.sup. | P.moy. | P.sup. | P.moy. | P.sup. | P.moy. | P.sup. |
| 3/6 | -17,9 | -20,72 | -30,8 | -20,72 | 8,9 | 7,5 | -26,45 | -31,68 |
| 3/13 | -14,6 | -24,31 | -7,6 | -24,31 | -71,7 | 7,8 | -2,49 | -7,98 |
| 3/14 | 25,8 | 13,98 | 23,4 | 13,98 | 29,3 | 25,4 | 3,24 | 1,04 |
| 3/15 | 18,1 | 1,80 | -3,1 | 1,81 | 11,8 | 1,4 | -3,47 | -13,50 |
| 3/16 | 14,1 | 13,64 | 11,0 | 13,64 | 8,2 | -4,2 | -6,81 | -9,94 |
| 3/17 | -15,7 | -16,45 | -14,8 | -16,45 | 11,2 | 9,4 | -16,48 | -24,08 |
| 3/18 | 4,2 | 0,10 | -3,3 | 0,10 | 12,0 | 8,0 | -6,42 | -7,67 |
| 6/13 | -18,9 | -30,29 | -22,8 | -30,29 | 0,9 | -2,6 | -18,05 | -19,41 |
| 6/14 | 7,4 | 0,48 | 3,1 | 0,48 | 30,0 | 24,6 | -13,02 | -20,79 |
| 6/15 | - 6,3 | -21,52 | -9,6 | -21,52 | 10,9 | 1,8 | -19,18 | -22,28 |
| 6/16 | -17,7 | -20,85 | -6,3 | -20,86 | -5,6 | -15,5 | -14,53 | -23,07 |
| 6/17 | - 4,8 | - 7,22 | -5,5 | -7,22 | 17,2 | 16,7 | -23,94 | -25,71 |
| 6/18 | 3,2 | - 4,11 | -6,7 | -4,11 | 15,1 | 9,6 | -13,85 | -20,95 |
| 13/14 | -16,7 | -32,28 | -24,5 | -32,28 | 14,5 | 6,1 | -14,03 | -20,50 |
| 13/15 | -19,1 | -21,58 | -27,3 | -21,58 | 4,0 | -1,3 | -16,13 | -20,63 |
| 13/16 | -10,4 | -20,41 | -21,5 | -20,41 | -3,4 | -10,6 | -15,77 | -23,02 |
| 13/17 | 8,6 | - 4,54 | -19,8 | -4,54 | 22,1 | 18,3 | -16,72 | -19,98 |
| 13/18 | 8,3 | - 0,58 | -14,4 | -0,58 | 18,2 | 8,9 | -6,94 | -13,27 |
| 14/15 | 22,0 | - 3,10 | -17,6 | -3,10 | 18,8 | 4,8 | -25,59 | -34,58 |
| 14/16 | 22,0 | 10,15 | 49,1 | 10,15 | 18,4 | 2,1 | 11,02 | 9,594 |
| 14/17 | -11,7 | -19,35 | -18,4 | -19,35 | 24,4 | 18,7 | -23,89 | -32,14 |
| 14/18 | 2,6 | -10,29 | -1,4 | -10,30 | 25,5 | 24,8 | -15,15 | -15,85 |
| 15/16 | 13,3 | - 2,02 | -7,7 | -2,02 | 6,4 | 3,6 | -12,76 | -24,15 |
| 15/17 | 6,3 | - 9,06 | -19,1 | -9,06 | 19,6 | 10,1 | -25,07 | -26,25 |
| 15/18 | -11,0 | -20,55 | -24,9 | -20,55 | 16,0 | 1,8 | -21,64 | -30,60 |
| 16/17 | -16,2 | -17,26 | -31,4 | -17,27 | 12,1 | 0,7 | -36,02 | -43,60 |
| 16/18 | -22,4 | -25,20 | -13,5 | -25,20 | 3,1 | -11,5 | -31,37 | -24,02 |
| 17/18 | 25,6 | 19,68 | -14,5 | 19,69 | 30,9 | 24,2 | -17,80 | -26,18 |
| moy. | - 0,78 | -9,69 | -10,00 | -9,71 | 11,03 | 6,8 | -15,35 | -20,40 |

Tableau 8 : Hétérosis relatif en % du parent moyen et du meilleur parent des caractères nombre de grains, poids de 1000 grains et poids des grains du maître-brin et longueur de l'épi

| génotypes | NBRGR | | PMG | | PDSGR | | LONGE | |
|-----------|--------|--------|---------------|---------------|---------------|--------|--------------|---------------|
| | P.moy. | P.sup. | P.moy. | P.sup. | P.moy. | P.sup. | P.moy. | P.sup. |
| 3/6 | - 4,67 | - 7,27 | 2,27 | 1,25 | -13,77 | -18,22 | - 7,28 | - 9,07 |
| 3/13 | 3,23 | 3,22 | - 1,69 | -10,43 | 2,14 | -6,09 | 15,17 | - 4,05 |
| 3/14 | 7,11 | 6,12 | - 2,45 | - 4,87 | 19,71 | 1,17 | 8,70 | - 1,15 |
| 3/15 | 7,58 | - 3,44 | 13,66 | 11,74 | 16,83 | 7,12 | 8,50 | - 5,21 |
| 3/16 | 3,42 | - 2,52 | 2,78 | 1,43 | 19,59 | 15,99 | 13,99 | 3,76 |
| 3/17 | - 1,58 | - 4,64 | 19,38 | 15,59 | 9,67 | 6,20 | - 0,76 | -11,87 |
| 3/18 | 0,60 | - 4,49 | 11,49 | - 4,08 | 13,72 | 9,77 | - 0,20 | - 7,91 |
| 6/13 | - 3,08 | - 5,71 | - 2,28 | -11,77 | -4,91 | -16,69 | 12,83 | - 2,10 |
| 6/14 | 5,64 | 7,64 | - 8,80 | -11,92 | 19,28 | 5,56 | 6,93 | - 1,00 |
| 6/15 | - 4,94 | -12,50 | 7,14 | 6,38 | -1,19 | -13,65 | 16,49 | 3,41 |
| 6/16 | - 3,08 | - 6,18 | 3,99 | 3,65 | 3,45 | -4,68 | 5,30 | - 2,50 |
| 6/17 | 5,45 | 5,01 | 4,35 | 0,07 | -3,44 | -11,17 | - 5,11 | -14,34 |
| 6/18 | 6,30 | - 1,68 | 10,43 | - 5,79 | 27,73 | 17,15 | - 0,74 | - 6,82 |
| 13/14 | 5,49 | 4,52 | -11,93 | -17,87 | 7,49 | -15,13 | 23,53 | 11,89 |
| 13/15 | 0,08 | -10,17 | - 1,26 | -11,41 | -3,48 | -3,77 | 30,46 | 23,38 |
| 13/16 | 9,06 | 2,80 | 15,46 | 3,94 | 20,03 | 13,58 | 18,57 | 7,41 |
| 13/17 | 13,27 | 9,75 | 1,30 | - 4,89 | 12,69 | 6,81 | 10,57 | 2,73 |
| 13/18 | 11,19 | 5,55 | 7,46 | 0,82 | 21,98 | 15,97 | 17,24 | 4,79 |
| 14/15 | 5,46 | - 4,55 | - 1,98 | - 6,00 | 26,93 | 0,00 | 10,85 | 5,88 |
| 14/16 | 9,69 | 4,30 | - 8,87 | -12,28 | 30,14 | 7,29 | 10,12 | 10,00 |
| 14/17 | 7,66 | 5,26 | - 5,36 | - 6,04 | 20,89 | -0,47 | 3,14 | 0,35 |
| 14/18 | 11,32 | 4,75 | -17,74 | -27,68 | 30,56 | 7,22 | 3,13 | 1,48 |
| 15/16 | 9,44 | 3,88 | 1,22 | 0,83 | 17,55 | 10,92 | 17,61 | 12,35 |
| 15/17 | 13,25 | 4,64 | 7,29 | 2,19 | 21,38 | 14,72 | 7,47 | 5,47 |
| 15/18 | 2,03 | -12,53 | 16,69 | - 1,03 | 8,23 | 2,61 | 8,72 | 2,39 |
| 16/17 | 9,82 | 6,74 | 3,80 | - 0,77 | 10,52 | 10,33 | - 7,13 | - 9,64 |
| 16/18 | 0,55 | - 9,74 | 5,67 | -10,09 | 12,35 | 11,79 | 5,44 | 3,88 |
| 17/18 | 15,68 | 6,58 | 7,01 | - 5,33 | 26,91 | 26,49 | 11,30 | 6,73 |
| moyennes | 5,21 | - 0,16 | 2,82 | - 3,73 | 13,32 | 3,60 | 8,74 | 1,08 |

Tableau 9 : Hétérosis relatif en % du parent moyen et du meilleur parent des caractères hauteur de la tige, nombre d'entre-nœuds, épiaison et progression verticale de l'oïdium

| génotypes | HAUT | | ENTRNR | | EPIAI | | OIDVERT | |
|-----------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| | P.moy. | P.sup. | P.moy. | P.sup. | P.moy. | P.sup. | P.moy. | P.sup. |
| 3/6 | - 9,13 | -11,14 | - 3,14 | - 3,93 | 2,40 | 1,02 | -18,20 | -30,80 |
| 3/13 | - 0,68 | -14,14 | 0,32 | - 0,65 | 1,13 | - 3,28 | -36,31 | -53,28 |
| 3/14 | 17,32 | 5,67 | 2,84 | 2,32 | - 3,34 | - 5,29 | -12,66 | -22,48 |
| 3/15 | 9,57 | 8,13 | 4,29 | 0,99 | - 0,48 | - 3,91 | -23,80 | -42,89 |
| 3/16 | 17,63 | 17,40 | 1,18 | - 0,33 | - 0,78 | - 4,50 | -34,21 | -52,65 |
| 3/17 | 13,57 | 11,14 | - 1,35 | - 3,32 | - 1,59 | - 8,08 | -19,29 | -39,51 |
| 3/18 | 16,18 | 8,99 | 2,73 | - 5,46 | - 0,37 | - 0,51 | -0,02 | -11,25 |
| 6/13 | - 0,26 | -12,10 | - 3,27 | - 3,58 | 0,66 | - 2,47 | 23,15 | 3,15 |
| 6/14 | 18,17 | 4,34 | - 2,65 | - 3,93 | 0,20 | - 0,51 | 14,10 | 7,97 |
| 6/15 | 8,35 | 7,33 | - 1,36 | - 5,24 | - 1,00 | - 3,14 | 20,85 | 3,98 |
| 6/16 | 7,69 | 5,10 | - 2,17 | - 4,26 | - 0,87 | - 3,39 | 10,89 | -9,34 |
| 6/17 | 5,93 | 1,42 | - 3,03 | - 5,57 | 1,19 | - 4,28 | 32,47 | 12,32 |
| 6/18 | 4,58 | 0,23 | - 4,38 | - 6,08 | 0,18 | - 1,29 | 66,39 | 57,46 |
| 13/14 | - 1,82 | -22,23 | - 2,81 | - 4,24 | 0,76 | - 1,69 | -11,84 | -29,35 |
| 13/15 | -11,81 | -22,91 | 1,70 | - 2,44 | 0,03 | - 0,96 | -10,72 | -13,55 |
| 13/16 | 0,99 | -12,84 | - 1,71 | - 6,36 | - 0,21 | - 0,82 | 6,57 | 3,40 |
| 13/17 | 5,34 | -10,57 | 0,00 | - 2,93 | 2,69 | 0,18 | -0,02 | -3,19 |
| 13/18 | - 0,89 | - 9,23 | - 9,80 | -16,24 | - 1,19 | - 5,65 | 24,76 | -0,02 |
| 14/15 | 20,22 | 7,04 | 3,10 | 0,33 | 0,95 | - 0,52 | 12,90 | -7,22 |
| 14/16 | 24,12 | 12,00 | - 2,71 | - 3,69 | - 5,62 | - 7,37 | 14,83 | -10,04 |
| 14/17 | 24,45 | 14,33 | 1,85 | 1,34 | - 0,46 | - 5,20 | 12,90 | -7,22 |
| 14/18 | 18,52 | 0,89 | - 3,51 | -11,62 | 0,89 | - 1,29 | 17,22 | 17,22 |
| 15/16 | - 1,91 | 10,41 | - 0,34 | - 2,22 | - 0,67 | - 1,06 | 3,16 | -2,98 |
| 15/17 | 11,14 | 7,37 | - 0,87 | - 2,24 | 1,47 | - 1,96 | 10,13 | 10,13 |
| 15/18 | 8,88 | 3,42 | - 2,19 | -12,60 | 0,06 | - 3,50 | 25,81 | 3,38 |
| 16/17 | 6,26 | 4,17 | - 3,09 | - 3,59 | - 0,25 | - 3,27 | 3,16 | -2,98 |
| 16/18 | 17,36 | 9,91 | - 6,16 | -14,70 | - 0,96 | - 4,87 | 23,84 | -2,98 |
| 17/18 | 19,41 | 9,78 | - 0,46 | - 9,94 | - 0,03 | - 6,76 | 29,90 | 6,74 |
| moyennes | 8,89 | 3,47 | - 1,32 | - 4,64 | - 0,18 | - 3,01 | 6,64 | -7,71 |

Tableau 10 : Matrices des distances de Hanson et Casas R^2_{ij} des caractères progression verticale (au dessus de la diagonale) et horizontale (au dessous de la diagonale) de l'oïdium

| | Jaidor | Motan | Beecher | CM67 | Prato | Apizaco | Ensenada | Saïda |
|----------|--------|--------|---------|--------|--------|---------|----------|--------|
| Jaidor | | 150,83 | 249,02 | 121,59 | 39,33 | 47,26 | 95,37 | 207,68 |
| Motan | 206,34 | | 108,43 | 315,49 | 176,84 | 122,14 | 96,42 | 40,78 |
| Beecher | 238,19 | 119,64 | | 243,91 | 108,58 | 161,39 | 115,78 | 45,87 |
| CM67 | 37,41 | 202,84 | 262,35 | | 88,36 | 215,46 | 154,75 | 180,04 |
| Prato | 66,52 | 82,85 | 138,00 | 71,56 | | 127,83 | 26,58 | 141,83 |
| Apizaco | 64,51 | 79,34 | 103,11 | 167,95 | 22,36 | | 105,89 | 190,11 |
| Ensenada | 114,32 | 86,65 | 141,13 | 153,73 | 71,92 | 94,26 | | 63,19 |
| Saïda | 206,27 | 86,01 | 31,11 | 203,66 | 73,85 | 52,97 | 137,35 | |

Tableau 11 : Matrices des distances de Hanson et Casas R^2_{ij} des caractères rendement en grain (au dessus de la diagonale) et rendement en paille (au dessous de la diagonale)

| | Jaidor | Motan | Beecher | CM67 | Prato | Apizaco | Ensenada | Saïda |
|----------|--------|--------|---------|--------|--------|---------|----------|--------|
| Jaidor | | 57,99 | 196,87 | 58,55 | 68,63 | 48,85 | 159,79 | 294,84 |
| Motan | 47,74 | | 65,51 | 140,03 | 148,46 | 151,64 | 63,36 | 100,47 |
| Beecher | 119,50 | 47,90 | | 160,01 | 133,47 | 274,61 | 37,00 | 35,95 |
| CM67 | 129,46 | 254,34 | 177,48 | | 31,50 | 29,88 | 170,32 | 232,29 |
| Prato | 121,39 | 111,12 | 55,18 | 46,13 | | 30,29 | 265,52 | 166,85 |
| Apizaco | 94,18 | 219,26 | 277,08 | 37,67 | 140,04 | | 207,77 | 159,99 |
| Ensenada | 198,28 | 79,29 | 41,49 | 234,47 | 77,49 | 159,45 | | 46,28 |
| Saïda | 165,20 | 90,20 | 26,16 | 156,05 | 36,16 | 162,11 | 12,65 | |

Tableau 12 : Matrices des distances de Hanson et Casas R^2_{ij} des caractères indice de récolte (au dessus de la diagonale) et nombre d'épis/plante (au dessous de la diagonale)

| | Jaidor | Motan | Beecher | CM67 | Prato | Apizaco | Ensenada | Saïda |
|----------|--------|-------|---------|-------|-------|---------|----------|-------|
| Jaidor | | 7,53 | 7,71 | 0,72 | 4,33 | 3,44 | 4,91 | 13,71 |
| Motan | 3,10 | | 6,58 | 6,76 | 7,80 | 8,59 | 3,30 | 7,86 |
| Beecher | 4,90 | 11,31 | | 8,27 | 6,80 | 8,54 | 2,45 | 2,30 |
| CM67 | 16,81 | 12,29 | 15,17 | | 3,37 | 3,06 | 6,13 | 10,66 |
| Prato | 8,22 | 10,42 | 4,50 | 6,37 | | 4,91 | 10,17 | 4,93 |
| Apizaco | 12,35 | 8,71 | 18,45 | 7,00 | 14,79 | | 10,27 | 9,41 |
| Ensenada | 10,61 | 12,61 | 1,68 | 19,41 | 7,01 | 9,76 | | 8,21 |
| Saïda | 7,88 | 12,74 | 1,19 | 13,85 | 4,35 | 13,10 | 0,68 | |

NB : R^2_{ij} de l'indice de récolte = 10^{-3} x R^2_{ij} du tableau

Tableau 13 : Matrices des distances de Hanson et Casas R^2_{ij} des caractères poids des grains du maître-brin (au dessus de la diagonale) et nombre de grains (au dessous de la diagonale)

| | Jaidor | Motan | Beecher | CM67 | Prato | Apizaco | Ensenada | Saïda |
|----------|--------|--------|---------|--------|--------|---------|----------|-------|
| Jaidor | | 0,58 | 0,64 | 0,30 | 0,31 | 0,42 | 0,37 | 1,11 |
| Motan | 88,63 | | 0,59 | 0,48 | 1,32 | 0,42 | 0,43 | 0,50 |
| Beecher | 173,59 | 173,94 | | 0,48 | 0,65 | 0,62 | 0,67 | 0,30 |
| CM67 | 151,25 | 95,61 | 52,66 | | 0,37 | 0,53 | 0,39 | 0,69 |
| Prato | 232,16 | 556,24 | 200,46 | 232,38 | | 1,09 | 0,71 | 0,89 |
| Apizaco | 63,29 | 212,66 | 136,59 | 91,92 | 100,81 | | 0,18 | 0,71 |
| Ensenada | 39,72 | 87,78 | 118,01 | 189,08 | 362,09 | 121,59 | | 1,12 |
| Saïda | 479,16 | 245,08 | 135,40 | 186,15 | 173,58 | 253,30 | 413,03 | |

Tableau 14 : Matrices des distances de Hanson et Casas R^2_{ij} des caractères poids de 1000 grains (au dessus de la diagonale) et longueur de l'épi (au dessous de la diagonale)

| | Jaidor | Motan | Beecher | CM67 | Prato | Apizaco | Ensenada | Saïda |
|----------|--------|-------|---------|--------|--------|---------|----------|--------|
| Jaidor | | 29,94 | 122,27 | 88,07 | 35,90 | 138,49 | 99,16 | 136,79 |
| Motan | 1,25 | | 48,85 | 111,16 | 20,89 | 133,03 | 58,48 | 107,92 |
| Beecher | 2,14 | 1,00 | | 179,22 | 125,06 | 27,56 | 132,22 | 177,95 |
| CM67 | 1,86 | 2,56 | 0,83 | | 108,76 | 119,43 | 53,05 | 10,76 |
| Prato | 2,97 | 0,84 | 0,82 | 0,52 | | 106,92 | 30,20 | 100,58 |
| Apizaco | 3,37 | 5,10 | 5,12 | 3,30 | 3,60 | | 99,12 | 113,94 |
| Ensenada | 4,58 | 3,58 | 1,62 | 2,94 | 4,08 | 7,18 | | 95,94 |
| Saïda | 7,04 | 5,60 | 3,75 | 3,05 | 4,58 | 4,84 | 1,00 | |

Tableau 15 : Matrices des distances de Hanson et Casas R^2_{ij} des caractères hauteur de la tige (au dessus de la diagonale) et nombre d'entre-noeuds (au dessous de la diagonale)

| | Jaidor | Motan | Beecher | CM67 | Prato | Apizaco | Ensenada | Saïda |
|----------|--------|-------|---------|--------|--------|---------|----------|--------|
| Jaidor | | 90,28 | 348,35 | 240,50 | 292,03 | 139,26 | 188,16 | 81,58 |
| Motan | 0,07 | | 342,71 | 189,10 | 280,45 | 254,59 | 189,77 | 285,59 |
| Beecher | 0,50 | 0,24 | | 102,30 | 66,73 | 447,26 | 195,71 | 99,36 |
| CM67 | 0,24 | 0,14 | 0,08 | | 11,93 | 139,21 | 192,03 | 74,29 |
| Prato | 0,11 | 0,09 | 0,17 | 0,11 | | 142,24 | 243,86 | 97,54 |
| Apizaco | 0,22 | 0,07 | 0,16 | 0,07 | 0,06 | | 26,72 | 118,97 |
| Ensenada | 0,08 | 0,09 | 0,41 | 0,18 | 0,10 | 0,24 | | 119,32 |
| Saïda | 0,34 | 0,40 | 0,08 | 0,13 | 0,36 | 0,19 | 0,45 | |

Tableau 16 : Matrices des distances de Hanson et Casas R^2_{ij} progression verticale (au dessus de la diagonale) de l'oïdium et stade épiaison (au dessous de la diagonale)

| | Jaidor | Motan | Beecher | CM67 | Prato | Apizaco | Ensenada | Saïda |
|----------|--------|--------|---------|--------|--------|---------|----------|--------|
| Jaidor | | 150,83 | 249,02 | 121,59 | 39,33 | 47,26 | 95,37 | 207,68 |
| Motan | 20,00 | | 108,43 | 315,49 | 176,84 | 122,14 | 96,42 | 40,78 |
| Beecher | 39,72 | 9,32 | | 243,91 | 108,58 | 161,39 | 115,78 | 45,87 |
| CM67 | 39,63 | 62,62 | 59,08 | | 88,36 | 215,46 | 154,75 | 180,04 |
| Prato | 50,50 | 11,27 | 8,52 | 39,31 | | 127,83 | 26,58 | 141,83 |
| Apizaco | 16,75 | 30,18 | 35,07 | 17,95 | 39,57 | | 105,89 | 190,11 |
| Ensenada | 13,80 | 33,55 | 15,34 | 28,43 | 16,57 | 24,27 | | 63,19 |
| Saïda | 40,74 | 15,10 | 6,80 | 39,05 | 5,94 | 44,17 | 22,09 | |

Tableau 17 : Répartition des phénotypes dans la population F₂.

| N° plante | Phénotype des hordéines | | N° plante | Phénotype des hordéines | |
|-----------|-------------------------|---|-----------|-------------------------|---|
| | B | D | | B | D |
| 1 | CM 67 | B | 24 | CM 67 | H |
| 2 | CM 67 | B | 25 | Hétérozy | B |
| 3 | CM 67 | H | 26 | CM 67 | H |
| 4 | CM 67 | H | 27 | MT | H |
| 5 | MT | H | 28 | MT | H |
| 6 | MT | H | 29 | CM 67 | H |
| 7 | Hétérozy | H | 30 | Hétérozy | H |
| 8 | MT | B | 31 | Hétérozy | H |
| 9 | Hétérozy | H | 32 | Hétérozy | H |
| 10 | MT | B | 33 | Hétéroz | H |
| 11 | MT | B | 34 | MT | H |
| 12 | MT | H | 35 | Hétérozy | H |
| 13 | MT | B | 36 | Hétérozy | H |
| 14 | Hétérozy | H | 37 | Hétéroz | H |
| 15 | CM 67 | B | 38 | MT | H |
| 16 | CM 67 | H | 39 | CM 67 | H |
| 17 | Hétérozy | B | 40 | CM 67 | H |
| 18 | CM 67 | H | 41 | MT | H |
| 19 | CM 67 | H | 42 | CM 67 | H |
| 20 | MT | H | 43 | MT | B |
| 21 | Hétérozy | H | 44 | MT | B |
| 22 | Hétérozy | H | 45 | MT | H |
| 23 | CM 67 | B | 46 | MT | H |

Hétérozy = hétérozygote

MT = Motan

CM 67 = California Mariout 67

Tableau 18 : Répartition des phénotypes des hordéines B et D. dans les lignées HD

| N° plante | Phénotype des hordéines | | N° plante | Phénotype des hordéines | |
|-----------|-------------------------|---|-----------|-------------------------|---|
| | B | D | | B | D |
| 1 | CM 67 | H | 21 | MT | H |
| 2 | MT | H | 22 | CM 67 | H |
| 3 | CM 67 | H | 23 | MT | H |
| 4 | MT | H | 24 | MT | H |
| 5 | CM 67 | H | 25 | CM 67 | H |
| 6 | MT | B | 26 | MT | H |
| 7 | MT | H | 27 | CM 67 | B |
| 8 | CM 67 | H | 28 | CM 67 | B |
| 9 | CM 67 | H | 29 | CM 67 | H |
| 10 | MT | B | 30 | MT | H |
| 11 | MT | H | 31 | MT | H |
| 12 | CM 67 | B | 32 | CM 67 | H |
| 13 | MT | B | 33 | MT | B |
| 14 | CM 67 | B | 34 | CM 67 | H |
| 15 | CM 67 | H | 35 | MT | B |
| 16 | MT | B | 36 | CM 67 | H |
| 17 | MT | B | 37 | MT | H |
| 18 | CM 67 | B | 38 | MT | H |
| 19 | MT | B | 39 | CM 67 | B |
| 20 | CM 67 | H | 40 | CM 67 | B |

