

Adaptation à la sécheresse et création variétale : le cas de l'arachide en zone sahélienne

Deuxième partie : une approche pluridisciplinaire pour la création variétale

D. CLAVEL¹
P. BARADAT¹
J.L. KHALFAOUI¹
N.K. DRAME²
N.D. DIOP³
O. DIOUF³
Y. ZUILY-FODIL²

¹ CIRAD (Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement),
TA70/01,
Avenue Agropolis,
34398 Montpellier Cédex 5, France
<clavel@cirad.fr>

² Laboratoire d'écophysiologie moléculaire,
UMR 137 Biodiversité des sols,
Faculté de Sciences et Technologie,
Université Paris 12,
64 Avenue du Général de Gaulle,
94010 Créteil Cédex, France

³ ISRA/CERAAS (Centre d'étude régional pour l'amélioration de l'adaptation à la sécheresse),
CERAAS,
BP 3320, Thiès-Escale, Thiès, Sénégal

Abstract: Drought is a multiform constraint whose impact on the vegetal metabolism is very variable according to its duration, intensity and phenological stage of the vegetal development where it occurs. Thus, the plant resistance is expressed at different plant organisation levels. The present study was aimed at integrating knowledge generated by experiments carried out in Senegal on groundnut within the framework of a breeding programme geared towards improving groundnut yield under drought conditions. Three studies involved in the breeding work, are presented. The first chapter analyses an incomplete half-diallel cross performed on an original population under recurrent selection for drought adaptation. The study confirmed the weak heritability of yields but concludes that the best predictor of pod-yield was the pod-yield itself. By contrast, the study of the genetic correlations showed that a selection for high haulm-yield could lead to poor pod-maturity under drought constraint. The selection indices were performed and used to estimate genetic gains relative to the main agronomic characters according to selection pressure. The second chapter covers the genetic variability of phenological, agronomic and physiological characters studied in two series of quasi-isogenic early lines. It has indicated that genetic variability was expressed in these lines despite its closeness. Some correlations between yield and physiological parameters, i.e. mainly fluorescence parameters, were significant but not stable across lines and environments showing that groundnut have different drought adaptation strategies according to genetic background and drought pattern. This work was pursued at the molecular level with three reference cvs involving the both recurrent parents of the precedent study. The gene transcript kinetics under drought, obtained using RT-PCR, showed that Phospholipase D and Cysteine protease gene expressions were stimulated by stress in the most susceptible cultivars, whereas their was higher LEA gene expression in the resistant one. These interconnected experiments conducted at different plant organisation levels led to the development of a general methodological model and of new improved genotypes to meet the social demand.

Key words: groundnut, drought adaptation, breeding, integration of knowledge

Au Sénégal, la forte demande sociale en variétés d'arachide améliorées dans les pays du Sahel a orienté la recherche agronomique vers l'obtention rapide de nouveaux cultivars (variétés cultivées). Les travaux réalisés pour l'amélioration génétique de l'adaptation à la sécheresse ont abouti à la création de lignées et de populations d'arachide adaptées à cet écosystème. Ces génotypes, adaptés à l'environnement ciblé, ont été créés dans le cadre de différents programmes de sélection basés sur une démarche pluridisciplinaire intégrant l'agrométéorologie, la physiologie, la génétique et la biologie moléculaire.

À travers la description approfondie des réponses de ces matériels végétaux sur les plans génétique, agronomique et physiologique et, dans une certaine mesure, moléculaire, une proposition méthodologique (modèle) fondée sur des questions de sélection a été élaborée. La première étape de ce modèle est constituée par un bilan des connaissances publié précédemment [1] dont l'objectif était d'analyser les problèmes rencontrés par la sélection pour l'adaptation à la sécheresse en particulier dans le cas de cette légumineuse tropicale très originale. Le présent article y fait suite en proposant une synthèse des principaux travaux de création variétale réalisés au Sénégal sur l'arachide depuis 1985. Dans cet article seront présentés les travaux de sélection récurrente pour la création et l'amélioration d'une population à large base génétique, ceux relatifs aux programmes de rétrocroisement mis en œuvre afin de raccourcir le cycle des variétés et ceux portant sur les réponses moléculaires pour des cultivars de référence bien décrits au plan agronomique et physiologique. Ces expérimentations interconnectées conduites aux différentes échelles d'organisation de la plante ont permis de proposer un modèle méthodologique général présenté dans la dernière partie de cet article.

Les travaux présentés ont été conduits par le CIRAD (Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement), l'ISRA (Institut sénégalais de recherche agricole) et le CERAAS (Centre d'étude régional pour l'amélioration de l'adaptation à la sécheresse) au

Article reçu le 28 septembre 2006
accepté le 10 juillet 2007

FONDAMENTAL

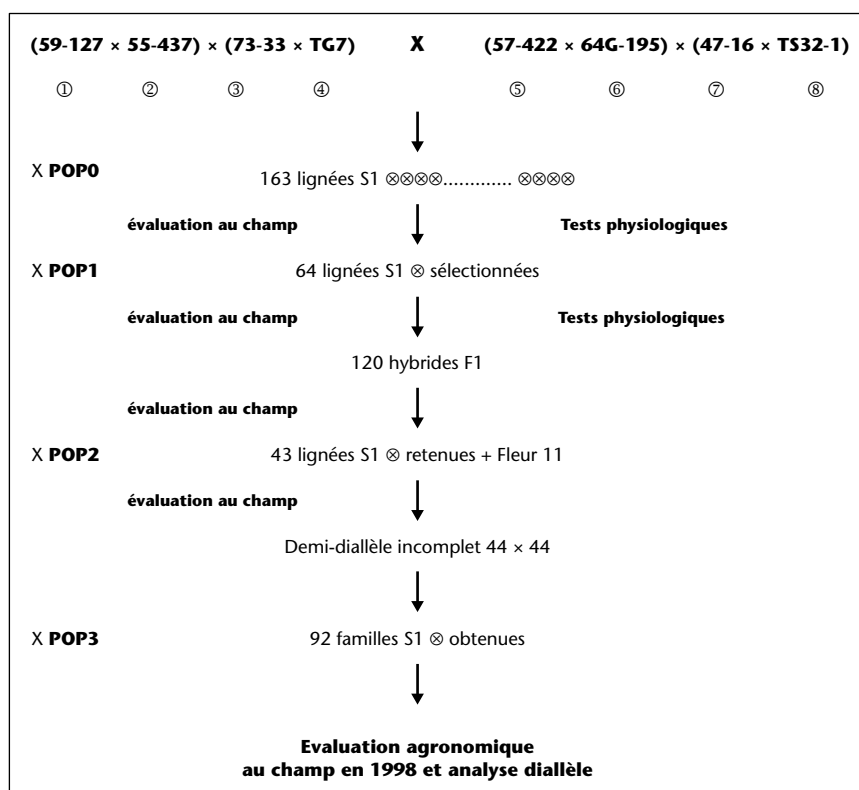


Figure 1. Schéma d'obtention de la population Pop3 par sélection récurrente : (X : intercroisement et ⊗ : autofécondation).

Sénégal dans le cadre des programmes de sélection et de l'amélioration des méthodologies de sélection de l'arachide pour une meilleure adaptation à la sécheresse. Les aspects moléculaires de cette recherche ont été réalisés grâce à l'appui du laboratoire d'écophysologie moléculaire de l'université Paris 12 (UMR 137 Biosol). L'ensemble du travail a été réalisé avec le concours financier de l'Union européenne dans le cadre du quatrième et du cinquième PCRD (Programme cadre de recherche et développement technologique) de l'Union européenne.

Le Programme de sélection récurrente : création d'une population à large base génétique

La variabilité des variétés d'arachide cultivées est limitée car la plupart des cultivars récents descendent des mêmes croisements originels du fait notamment de la difficulté des croisements manuels pour cette espèce [2, 3]. Cependant, dans le cas des caractères adaptatifs mis en œuvre dans la résistance à la sécheresse, il est important de disposer d'une base génétique relativement large pour que la sélection soit efficace [4, 5]. Par conséquent, la variabilité génétique disponible doit être élargie. La sélection récurrente est une méthode très appropriée pour créer une nouvelle variabilité génétique relative à un caractère complexe tel que l'adaptation à la sécheresse [5, 6]. Cependant pour l'arachide, espèce strictement autogame et à petites fleurs, la difficulté des intercroisements est élevée et par conséquent les programmes de sélection récurrente sur arachide sont rares [7].

Objectif

Le présent travail avait pour objectif la recherche des meilleurs prédictors du rendement en condition de sécheresse de fin de cycle chez

l'arachide. Les paramètres génétiques ont été estimés pour les principaux caractères agronomiques (rendements et composantes du rendement) et technologiques (qualité des fruits et des grains). Cette analyse génétique ainsi qu'un calcul d'index optimisant les gains génétiques sur les principaux caractères mesurés ont été opérés sur la base d'un test de descendance issues d'un plan de croisement en demi-diallèle réalisé au champ.

Matériel et méthodes

Matériel végétal

Un programme de sélection récurrente sur test S1 a été conduit au Sénégal de 1985 à 1998. Il a permis de créer une population améliorée pendant 3 cycles en prenant en compte des critères agronomiques et physiologiques d'adaptation à la sécheresse [8]. La population initiale a été créée à partir de huit variétés non apparentées, et éloignées sur le plan botanique et géographique (figure 1). Une sélection familiale (premier cycle) et combinée individu-famille (à partir du deuxième cycle) selon deux processus réalisés en parallèle a été conduite [8]. Les caractères physiologiques concernés par la sélection étant très difficiles à mesurer sur de grands nombres, les familles issues du croisement pyramidal initial (cycle 1) ou des intercroisements de recombinaison (cycle 2) ont été séparées en deux groupes. Une première partie des familles a été testée en serre en conditions hydriques contrôlées pour les caractères physiologiques d'adaptation à la sécheresse tandis que l'autre partie a été évaluée au champ dans les conditions naturelles de l'hivernage. La sélection en serre (en rhizotrons) et celle du champ ne portaient pas sur les mêmes familles ni sur les mêmes critères, l'objectif étant d'intercroiser les familles sélectionnées selon les deux processus lors des cycles de recombinaison. La sélection réalisée en serre a retenu les individus qui possédaient des elongations racinaires, des régulations stomatiques

(transpiration) et des résistances protoplasmiques les plus favorables à la résistance (sélection sur caractères physiologiques) alors que les individus sélectionnés au champ étaient issus des familles montrant une combinaison optimale des caractères de production et de qualité technologique (sélection sur caractères agronomiques). Les individus « physiologiques » ont été intercroisés avec des individus issus des meilleures familles « agronomiques » à la fin du premier cycle de sélection. Le deuxième cycle de sélection (Pop2), a été réalisé à partir 96 familles choisies sur la base des performances familiales. Ces familles ont été conduites en S1 et testées sur le plan agronomique et physiologique. Un index empirique a été calculé sur la base des résultats réalisés en serre sur les racines, le contrôle stomatique et résistance protoplasmique, par la variété Fleur 11, nouveau témoin de productivité qui montre régulièrement au Sénégal d'excellentes performances sur le plan de la stabilité de rendement [9]. L'application de cet index a permis de sélectionner 43 individus pour la recombinaison du 3^e cycle (Pop3). Un 44^e parent, la variété Fleur 11, a été introduite dans le plan de recombinaison en demi-diallèle. Ce plan de croisement a permis d'obtenir 92 familles S1 constituant Pop3 (figure 1) qui a fait l'objet de l'étude théorique de recherche des meilleurs prédicteurs du rendement.

Conditions de culture

L'expérimentation a été installée dans des conditions peu différentes de la pratique courante dans cette zone dans les conditions naturelles de l'hivernage 1998 sur une parcelle de la station expérimentale de Bambey (14,42°N et 16,28°W). Les graines traitées à l'aide d'un fongicide-insecticide utilisé localement ont été semées en début d'hivernage, le 21 juillet, après deux faibles pluies cumulant moins de 15 mm. Aucune fertilisation de fond n'a été apportée. Le semis a été réalisé à deux graines par poquet avec démarrage à un plant. Un arrosage d'appoint de 20 mm a été réalisé le 31 juillet afin d'assurer une bonne installation de la culture. Le cumul pluviométrique total de l'hivernage à Bambey a été de 350 mm, la culture a donc reçu 370 mm d'eau ce qui correspond à une quantité proche de la normale pour cette zone. La récolte a été réalisée à 90 jours, le 18 octobre. Le déficit hydrique de fin de cycle a donc été très marqué avec 4,6 mm au mois d'octobre.

Dispositif et analyse statistique

Les 92 familles S1 étaient disposées en blocs incomplets à composition aléatoire et répétées 6 fois pour la majorité d'entre elles, soit 86 familles sur 92. Un total de 540 parcelles élémentaires (familles) distribuées en 27 blocs carrés (5,5 m × 5,5 m) a été observé. L'ensemble des calculs a été réalisé sur la base d'observations individuelles de chacune des 5 plantes (théoriques) qui constituaient une parcelle élémentaire dans chaque répétition. Le dispositif d'étude et les analyses statistiques ont été réalisés par le logiciel de génétique quantitative DIOGENE, une version étendue du logiciel OPEP [10].

Traitement des données

L'analyse du plan de croisement en demi-diallèle incomplet de familles S1 a été réalisée selon le modèle aléatoire de Garretsen et Keuls [11]. Les résultats concernent dix caractères agronomiques d'intérêt sur l'arachide : poids total (Tot), de gousses (Gous), de fanes (Fa), nombre de graines (Nb-Gr), de gousses (Nb-Go), taux de maturité (%Mat), coefficient au décorticage « Tout-Venant » (%Déc-TV), coefficient au décorticage des graines de qualité « Semence » (%Déc-S), taille des gousses (P100Go) et taille des graines de qualité « semence » (P100S). Les héritabilités et les coefficients de prédiction génétique (CPG) ont été calculés sur la base d'observations individuelles pour ces 10 caractères. Les gains génétiques attendus ont été estimés à partir d'un calcul d'index sur les données ajustées d'un sous-ensemble des cinq principaux caractères : Gous, Fa, %Mat, Déc-TV et P100S.

Le CPG fournit des indications sur les relations génétiques mais aussi environnementales qui lient les caractères [12] est le développement de la notion d'héritabilité généralisée [13] étendue à deux caractères différents. L'héritabilité d'un caractère x_i , $h^2(x_i)$, est le coefficient de régression de la valeur génétique de ce caractère sur sa valeur phénotypique. Pour deux caractères différents, x_i et x'_i , normé chacun par leur écart-type phénotypique, la formule générale du coefficient de prédiction génétique est la suivante :

$$CGP(x_i, x'_i) = cov G(x_i, x'_i) / [\sigma_p(x_i) \sigma_p(x'_i)]$$

Où σ_p est l'écart-type phénotypique

Le paramètre est sans dimension, symétrique et défini entre +1 et -1 comme un coefficient de corrélation. Il donne la fraction d'écart-type phénotypique dont sera, en espérance, diminuée (CPG négatif) ou augmentée (CPG positif) la valeur génétique de l'un des caractères si la moyenne est augmentée d'un écart-type phénotypique pour l'autre caractère. Comme l'héritabilité, le CPG est défini au sens strict (effets génétiques additifs) et au sens large (effets génétiques totaux). La significativité des intervalles de confiance pour ce paramètre a été évaluée par une méthode de ré échantillonnage basée la procédure Jackknife [14] réalisée façon automatique par le logiciel DIOGENE.

Une variance environnementale élevée ayant été observée, un ajustement des valeurs a été opéré en utilisant une méthode dérivée de Papadakis [15-18] qui est réalisée par le logiciel DIOGENE. Cette méthode dérivée permet de réduire les microvariations spatiales des valeurs phénotypiques des caractères en utilisant l'information des voisins géographiques immédiats. Après ce traitement des données, les index de sélection basés sur la méthode Best Linear Predictors (BLP) [19] ont été construits à partir d'une combinaison linéaire des 5 traits prédicteurs : Gous, Fa, %Mat, Déc-TV, et P100S. Les index utilisent un caractère cible unique, qui est son propre prédicteur, associé avec quatre autres traits utilisés comme prédicteurs. Ils donnent le maximum de gain génétique qui peut être atteint pour chaque caractère cible en utilisant ou non l'information sur les autres traits. Chaque variable prédit sa propre valeur génétique et la valeur génétique des quatre autres caractères. Dans le calcul, seule la partie héritable (additive) a été prise en compte. La pression de sélection considérée dans les index présentés était de 5 %. Les deux premiers indices maximisent le gain génétique pour le caractère affecté du coefficient 1 (poids de gousses et poids de fanes) et le troisième donne la meilleure combinaison de gains génétiques en fonction du poids agronomique des caractères. Les gains génétiques attendus pour chaque calcul d'index et la qualité de l'estimation et le maximum de gain génétique théorique (H) sur le trait ciblé et l'index (I), $r(H, I)$ ont été calculés comme décrit dans [20]. Les index ont été calculés dans le cas de deux situations : pour une sélection combinée individu-famille et pour une sélection familiale uniquement.

Résultats et discussion

Contrôle génétique

Le contrôle génétique des caractères mesurés a été majoritairement non additif notamment pour les variables de taille – Poids de 100 graines (P100S) et Poids de 100 gousses (P100Go) – pour lesquelles la mesure est précédée d'un tri des plus grosses gousses et graines donc moins influencée par le milieu (tableau 1). Ce contrôle principalement dominant devrait conduire à privilégier la sélection d'hybrides et à éviter la sélection généalogique. Or, du fait de la stricte autogamie de l'arachide et de la difficulté d'obtenir des populations panmictiques de sélection, la pratique courante sur arachide est orientée vers la sélection généalogique à partir de croisements simples. À cet égard, la sélection récurrente qui permet, dans une certaine mesure, de tirer bénéfice des effets de dominance, est intéressante. Néanmoins les effets de dominance et d'épistasie détectés pourraient être liés à la diversité génétique entre les parents

Tableau 1. Pourcentage d'additivité de la variance génétique et valeurs des héritabilités des 92 familles S1 d'arachide du demi-diallèle pour dix traits agronomiques mesurés en conditions de déficit hydrique de fin de cycle.

Traits ^a	Tot	Gous	Fa	Nb-Gous	Nb-Gr	%Mat	% Déc-TV	% Déc- S	P100 S	P100Go
σ_a^2 (%)	48,9	33,0	48,2	34,0	42,9	37,0	40,1	54,7	17,9	11,6
h^2_{sl}	0,30	0,30	0,34	0,29	0,32	0,42	0,46	0,25	0,77	0,92
h^2_{ss}	0,15	0,10	0,16	0,10	0,14	0,16	0,19	0,14	0,14	0,11

¹ σ_a^2 (%): pourcentage d'additivité de la variance génétique ; h^2_{sl} : héritabilité au sens large ; h^2_{ss} : héritabilité au sens strict. Toutes les estimations des coefficients d'héritabilité sont significativement ($P < 5\%$) différentes de 0.

^a Poids total (Tot), poids de gousses (Gous), poids de fanes (Fa), nombre de Gous (Nb-Gous), Nb de grains (Nb-Gr), pourcentages de maturité (%Mat), Coefficient de décortilage des graines tout-venant (%Déc-TV), Coefficient de décortilage des graines de qualité semence (%Déc-S), poids de 100 graines de qualité « semence » (P100S) et poids de 100 gousses (P100 Go).

d'origine car il a été montré que, sur les caractères quantitatifs, ces effets progressent quand la diversité des parents s'accroît [21, 22]. Par ailleurs, la variation spatiale des réponses variétales – qui augmente la part de la variance environnementale – est particulièrement sensible sur les paramètres de production et constitue le principal obstacle à la répétabilité des résultats en conditions de sécheresse [23, 24]. Ce résultat justifie l'emploi d'un traitement des données prenant en compte des coordonnées géographiques des plantes dans le dispositif au champ. Par ailleurs, dans le plan de croisement utilisé, les composantes de la dominance-

épistasie ont peut-être été majorées par le fait que les individus choisis au hasard pour le passage en S1 n'étaient par forcément représentatifs du croisement initial ce qui a entraîné une « dérive génétique » qui s'ajoute aux effets de dominance.

Corrélations des effets environnementaux

Les relations fonctionnelles entre caractères sont bien traduites par les corrélations des effets environnementaux présentés dans le tableau 2. L'analyse de ces corrélations a montré que les effets de l'environnement

Tableau 2. Matrice des corrélations des effets environnementaux de 92 familles S1 d'arachide issue du demi-diallèle pour dix caractères agronomiques mesurés en conditions de déficit hydrique de fin de cycle.

Traits ^a	Tot	Gous	Fa	Nb-Go	Nb-Gr	%Mat	%Déc-TV	%Déc-S	P100S	P100Go
Tot	1,000 0,000 ***									
Gous	0,828 0,014 ***	1,000 0,000 ***								
Fa	0,951 0,004 ***	0,614 0,027 ***	1,000 0,000 ***							
Nb-Go	0,826 0,017 ***	0,965 0,009 ***	0,631 0,028 ***	1,000 0,000 ***						
Nb-Gr	0,696 0,022 ***	0,886 0,010 ***	0,491 0,031 ***	0,839 0,011 ***	1,000 0,000 ***					
%Mat	0,169 0,037 ***	0,256 0,035 ***	0,097 0,039 *	0,180 0,038 *	0,325 0,032 ***	1,000 0,000 ***				
%Déc-TV	-0,049 0,041 n.s	0,081 0,039 *	-0,113 0,041 **	0,030 0,039 n.s	0,257 0,033 ***	0,569 0,033 ***	1,000 0,000 ***			
%Déc-S	-0,056 0,034 n.s	0,080 0,034 *	-0,124 0,033 **	-0,026 0,035 n.s	0,386 0,028 ***	0,544 0,028 ***	0,679 0,023 ***	1,000 0,000 ***		
P100S	-0,023 0,058 n.s	0,085 0,058 n.s	-0,079 0,059 n.s	0,110 0,057 n.s	0,086 0,058 n.s	0,488 0,067 ***	0,353 0,071 ***	0,434 0,051 ***	1,000 0,000 ***	
P100Go	0,217 0,086 *	0,437 0,086 *	0,064 0,091 n.s	0,380 0,126 **	0,677 0,146 ***	0,677 0,149 ***	0,539 0,139 **	0,739 0,145 ***	0,179 0,173 n.s	1,000 0,000 ***

ligne 1: coefficient de corrélation (r); ligne 2: Ecart type; ligne 3: intervalle de confiance de la probabilité que r soit différent de 0 notée *, **, *** pour 5, 1 et 0,1 %, respectivement.

^a Poids total (Tot), poids de gousses (Gous), poids de fanes (Fa), nombre de Gous (Nb-Gous), Nb de grains (Nb-Gr), pourcentages de maturité (%Mat), Coefficient de décortilage des graines tout-venant (%Déc-TV), Coefficient de décortilage des graines de qualité semence (%Déc-S), poids de 100 graines de qualité « semence » (P100S) et poids de 100 gousses (P100Go).

Tableau 3. Coefficients de prédiction génétique au sens strict (CPG) de 5 caractères (poids de gousses, poids de fanes, taux de maturité, taux de décortiquage tout-venant et poids de 100 graines de qualité « semence ») sur les lignées S1 de l'arachide issues du plan de croisements en demi-diallèle. Les héritabilités au sens strict (h^2_{ss}) sont en caractères gras sur la diagonale.

Traits	Gous	Fa	% Mat	% Déc-TV	P100S
Gous	0,099***				
Fa	0,080***	0,163***			
% Mat	n.s.	-0,075***	0,157***		
% Déc-TV	n.s.	-0,049*	0,197***	0,186***	
P100S	n.s.	0,072***	-0,054*	n.s.	0,138***

¹ Poids total (Tot), poids de gousses (Gous), poids de fanes (Fa), pourcentages de maturité (% Mat), Coefficient au décortiquage des graines « tout-venant » (% Déc-TV) et poids de 100 graines (P100S).

sur le rendement en gousses étaient très liés à ceux des composantes du rendement et à ceux du taux de maturité des gousses alors qu'ils étaient beaucoup faiblement liés à ceux des coefficients au décortiquage et de la taille des fruits (tableau 2, colonne Gous). Sous la contrainte hydrique, l'effet de l'environnement s'exerce donc de façon complexe sur le contrôle génétique des caractères de qualité et souligne le risque d'exercer une pression de sélection sur le rendement uniquement sans contrôler la qualité technologique de la production.

Prédiction génétique d'un caractère par un autre

La qualité de la prédiction génétique d'un caractère par un autre a été évaluée par le calcul de coefficient de prédiction génétique au sens strict [10, 25]. La principale conclusion tirée des calculs de CPG concerne la relation négative entre le poids de gousses et de fanes et la maturité des gousses (tableau 3). Ce résultat indique qu'une biomasse aérienne importante est souvent associée à une mauvaise maturité des gousses. Ce point pose un problème pratique. En effet, dans les zones à faible potentiel agricole comme le Sahel, la demande sociale est très forte sur des produits à utilisations multiples, à la fois fourrage pour le bétail, huile artisanale pour la consommation humaine et produit de rente pour l'industrie de transformation en huile. Ces résultats montrent qu'un programme de sélection visant la création d'une arachide à usage mixte trouverait rapidement ses limites.

Index de sélection

Les constructions d'index de sélection permettent d'estimer les gains génétiques attendus. Ces estimations ont été obtenues sur les cinq principaux caractères agronomiques et technologiques de l'arachide. Elles ont indiqué qu'une pression de sélection exercée sur le rendement en gousses était la voie la plus efficace pour améliorer ce même rende-

ment en gousses. Les calculs d'index ont montré par ailleurs, qu'une pression de sélection exercée sur le rendement en gousses permettrait aussi d'améliorer le poids de fanes de 22,2 % tout en maintenant le taux de maturité, (+ 1,94 %) (tableau 4, Index 1). Si la sélection est ciblée sur le poids de fanes, la qualité des graines, notamment le pourcentage de maturité, sera dépréciée (tableau 4, Index 2), ce qui confirme le résultat précédent sur les CPG. Le calcul du troisième index montre que l'on peut obtenir une amélioration des rendements en gousses et en fanes et de la maturité simultanément en dépit de leurs faibles héritabilités si la sélection s'exerce sur les 3 caractères en même temps (tableau 4, Index 3). Il faudra néanmoins accorder une attention particulière aux caractères qualitatifs pour éviter leur dérive car ils sont hérités indépendamment du rendement en gousses. Dans le cas d'une utilisation mixte des produits arachidiers, il semble donc que deux types variétaux distincts doivent être proposés aux utilisateurs afin d'optimiser les gains génétiques.

Les calculs d'index ont montré que les sélections combinées individus-familles, qui exigent des mesures individuelles des caractères, n'amélioreraient pas les gains génétiques attendus par rapport à des mesures familiales (résultats non montrés). Ce résultat doit être pondéré car les valeurs génétiques intervenant dans le calcul d'index ont tenu compte de la valeur des caractères mesurés sur chaque individu (chaque plante) constituant la lignée.

Conclusion

L'intérêt de ce travail réside dans le fait d'avoir pu étudier au plan individuel de nombreuses descendance issues d'un demi-diallèle incomplet (rarement disponible sur l'arachide du fait de la difficulté des croisements manuels) grâce à un dispositif et une analyse des données adaptés. Cette étude a permis de confirmer que les héritabilités au sens strict des principaux caractères agronomiques de l'arachide sous une contrainte hydrique étaient faibles. Il faudra, par conséquent, maintenir une pression de sélection sur chacun de ces caractères. Cependant, comme les effets de l'environnement sur le poids de gousses et le taux de maturité sont en liaison positive il sera relativement aisé, en pratique, de trouver des génotypes productifs présentant une bonne maturité.

Les résultats sur les calculs de CPG et d'index montrent que, dans le cadre d'une sélection directe sur caractères agronomiques, le moyen le plus sûr d'améliorer le rendement en gousses est d'exercer une pression sur le rendement en gousses lui-même. En revanche, une forte pression sur la biomasse aérienne entraînera une baisse de la qualité des graines et notamment de leur niveau de maturité, critère de qualité majeur de l'arachide en zone sèche du fait du rôle de l'eau dans le processus de maturation.

Ce programme a permis de contribuer au développement agricole afin de satisfaire à la demande en cultivars mieux adaptés à la sécheresse. Des sélections généalogiques, démarrées dès le deuxième cycle de sélection,

Tableau 4. Gains génétiques attendus sur 5 caractères (poids de gousses, poids de fanes, taux de maturité, taux de décortiquage et poids de 100 graines) sous une pression de sélection de 5 % exercée sur le poids de gousses seul (Index 1), sur le poids de fanes seul (Index 2) et sur les poids de gousses, de fanes et le pourcentage de maturité simultanément (Index 3).

Trait ^a	Coef. Index 1	Gain gén. attendu (%)	Coef. Index 2	Gain gén. attendu (%)	Coef. Index 3	Gain gén. attendu (%)
Gous	1	23,7	0	17,1	1	18,5
Fa	0	22,2	1	30,7	1	14,5
% Mat	0	1,94	0	-9,9	1	12,6
% Déc-TV	0	0,9	0	-1,5	0	3,8
P100S	0	3,7	0	7,5	0	3,7
R(H,i)	0,56		0,57		0,59	

^a Poids de gousses (Gous), poids de fanes (Fa), pourcentages de maturité (% Mat), Coefficient au décortiquage des graines « tout-venant » (% Déc-TV) et poids de 100 graines de qualité « Semence » (P100S).

ont permis la diffusion de 4 nouvelles variétés dont le rendement et/ou la qualité est supérieure aux anciens cultivars dans le circuit de la production de semence.

Programme de rétrocroisement : étude de la variabilité génétique des caractères d'adaptation chez des lignées précoces apparentées

Dans le nouveau contexte climatique des régions sahéliennes qui prévaut depuis la fin des années soixante-dix, le raccourcissement des cycles des cultivars d'arachide est devenu une nécessité [26,27]. En effet, quels que puissent être les caractères physiologiques d'adaptation d'un végétal, la première des conditions à remplir dans un programme de sélection pour l'adaptation à la sécheresse est de disposer d'un matériel végétal dont la longueur de cycle est adaptée à la longueur de la saison de culture [23,26-28].

Au démarrage du programme sélection pour la précocité, à la fin des années quatre-vingt, les longueurs de cycle théoriques pour la zone Nord du « Bassin Arachidier » sénégalais, entre les isohyètes 300 et 500 mm, ont été établies à 80 jours (figure 2) grâce à une méthode basée sur la simulation des bilans hydriques [29]. Les programmes de rétrocroisement pour la réduction de la longueur de cycle ont démarré au Sénégal sur les variétés cultivées dont les plus précoces avaient un cycle de 90 jours. Des lignées de 80 jours ont été obtenues après 3 cycles de rétrocroisements (ou back cross, BC) successifs sur la variété parentale femelle récurrente, 55-437 (lignées BC55) et 4 cycles de rétrocroisement sur la variété parentale femelle récurrente 73-30 (lignées BC73). La précocité a été transférée par croisements manuels grâce à l'utilisation d'un géniteur de précocité, Chico, variété peu productive d'une longueur de cycle de 75 jours. Parmi plusieurs dizaines de lignées introgressées au backcross 3 pour BC55 et au back cross 4 pour BC73, les plus productives ont été retenues au cours d'une série d'essais variétaux conduits à Bambey dans les conditions naturelles des hivernages de 1996 à 2000.

La réduction de variabilité opérée par la sélection permet d'« isoler » donc d'évaluer l'effet du caractère « précocité » intégré dans un fond génétique peu différent, celui du parent récurrent. Un autre avantage lié à l'évaluation de telles lignées est de réduire les variations dans la réponse des plantes à l'intérieur d'un même essai, ce qui permet d'observer des différences variétales plus fines en réponse au stress [30]. Ces différences

de réponses variétales constitueront des critères de sélection plus directement utilisables que ceux obtenus dans des études physiologiques réalisés sur des matériels génétiques contrastés généralement disponibles dans la littérature [31-33]. Les résultats présentés concernent l'étude au champ réalisée à Bambey en 2001 et 2002, en conditions d'hivernage avec irrigation partiellement contrôlée afin d'obtenir un déficit hydrique de fin de cycle [34].

Objectif

L'objectif de cette étude était de fournir des critères physiologiques de sélection pertinents sur l'arachide en conditions de déficit hydrique de fin de cycle. La validation des mesures agronomiques et physiologiques en tant que critères de sélection est fondée sur deux facteurs. Le premier repose sur l'évaluation de leur variabilité génétique, c'est-à-dire leur pouvoir de discrimination génotypique à l'intérieur des deux groupes de lignées génétiquement proches. Le deuxième facteur de validation est constitué par l'établissement de corrélations entre ces caractères, mesurés à différents stades, et les rendements finaux en conditions hydriques favorables ou non.

Matériel et méthodes

Conditions de culture

Jusqu'en 2001, les essais ont été conduits dans les conditions naturelles des hivernages. Pour les besoins de l'étude agro-physiologique de 2001 et 2002, les essais ont été conduits en double condition d'alimentation en eau, conditions d'alimentation hydrique optimale et en conditions de stress hydrique de fin de cycle. Un décalage de semis d'environ 3 à 4 semaines a été réalisé afin de garantir un déficit hydrique de fin de cycle pour la partie des essais conduits en conditions de stress hydrique. Un complément d'irrigation a été appliqué pour la partie des essais en conditions d'alimentation hydrique optimale. Le déficit hydrique a été appliqué au 49-51^e jour après semis (JAS), a été plus intense en 2002 qu'en 2001 avec - 47 % et - 28 %, respectivement (figure 3).

Observations réalisées

Les rendements en gousses et en fanes ont été mesurés ($G_0 \text{ kg ha}^{-1}$ et $F_0 \text{ kg ha}^{-1}$). La date de floraison a été évaluée en jours après semis (JAS) à l'apparition de la première fleur sur 50 % plants au moins sur chaque parcelle (F 50 %). Le pourcentage de maturité à la récolte (Mat %) a été estimé sur la base d'une classification visuelle de la coloration du péri-carpe interne des gousses [35].

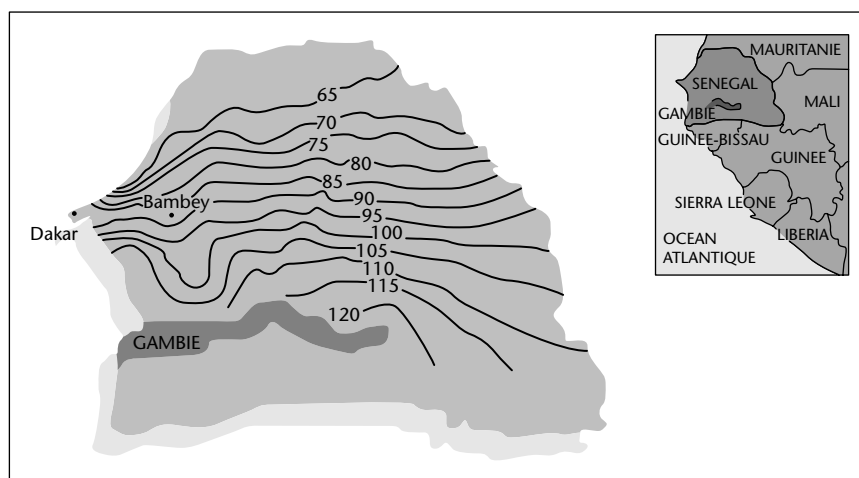


Figure 2. Longueurs de cycles souhaitables (en jours) en fonction de la latitude pour les variétés d'arachide au Sénégal (d'après [29]).

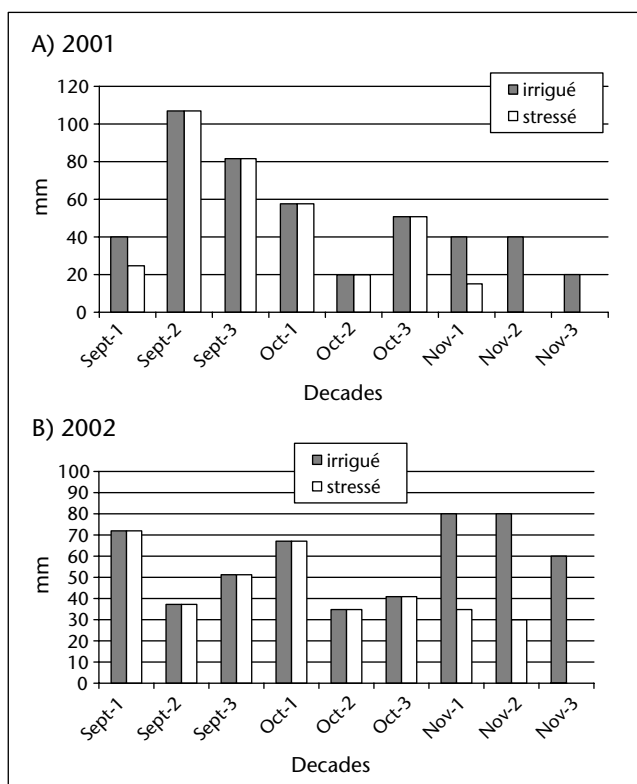


Figure 3. Alimentation hydrique des essais de lignées quasi-isogéniques d'arachide cultivées à Bambey en 2001 (A) et en 2002 (B). Les cumuls ont été de 456,8 mm (irr) et 356,8 mm (stress) en 2001 et 543,4 mm (irr) et 368,4 mm (stress) en 2002.

Des indices sensibilité [36] et de tolérance [37] à la sécheresse ont été calculés. L'indice de sensibilité Fisher et Maurer (1978) [36], le plus couramment utilisé, mesure la réduction de rendement relative normalisée par rapport à la population comme suit :

$$SSI = (1 - R_i/R_j) / (1 - \bar{R}_s/\bar{R}_i)$$

[36]

L'indice de tolérance au stress intègre la réduction de rendement et le rendement potentiel comme suit :

$$STI = (R_i \times R_j) / (\bar{R}_i)^2$$

[37]

Où : R_i est le rendement en gousses des plantes irriguées, R_j le rendement en gousses des plantes stressées et s et i sont les mêmes paramètres en moyenne de la population.

Le développement du couvert (Indice foliaire, LAI, Licor-2000), le statut hydrique (Contenu Relatif en eau, CRE) et les paramètres liés à la fluorescence chlorophyllienne qui reflètent les activités photochimiques de la photosynthèse (mesurés au fluorimètre PEA) ont fait l'objet d'un suivi hebdomadaire pendant toute la phase de déficit hydrique.

Dispositif

Les essais étaient constitués par 4 à 6 lignées quasi-isogéniques de 55-437 et de 73-30, les témoins étaient 55-437, 73-30 et Chico. Le dispositif était en split-plot à 4 répétitions. La parcelle élémentaire était constituée par 5 lignes de 6 m, les 3 lignes centrales formant la parcelle utile. L'écartement choisi, 50 × 15 cm, correspond à 133 000 pieds ha⁻¹ et aucune fertilisation n'a été apportée. Les analyses statistiques ont été réalisées sur SAS (version 8/02).

Résultats et discussion

Amélioration des caractères agronomiques

Les rendements en gousses ont été très supérieurs en 2002 du fait d'un cumul et d'une répartition pluviométrique beaucoup plus favorables (figure 3). Les rendements en gousses obtenus en conditions de bonne alimentation hydrique ont été supérieurs à ceux obtenus dans des conditions de stress pour les deux années de test et les deux séries de lignées (figure 4). Le taux de maturité a été généralement affecté significativement par le déficit hydrique. Pour certaines lignées, la sélection pratiquée a permis de maintenir ou d'améliorer le rendement en conditions de stress et en conditions de bonne alimentation hydrique tout en améliorant la qualité des gousses, notamment leur taux de maturité (tableau 5). Les lignées sélectionnées ont toutes montré une précocité de maturité supérieures à celles des parents récurrents en condition de stress ce qui montre la réussite du transfert de précocité (tableau 5).

Les rendements en gousses obtenus en conditions de bonne alimentation hydrique n'ont pas été corrélés avec les rendements réalisés en conditions de déficit hydrique (tableau 6). Ce résultat montre que la sélection pour l'adaptation à la sécheresse de l'arachide ne sera efficace que si elle est réalisée en conditions hydriques limitantes. Les coefficients de corrélation entre les rendements en fonction des saisons de culture ont été très significatifs et peu différents entre eux, 0,43 ($P < 0,01$) pour les lignées BC55 et de 0,50 ($P < 0,01$) pour les lignées BC73 (tableau 6). Ce résultat signifie que les rendements des lignées ont été stables d'une année sur l'autre bien que les conditions d'application du stress hydrique de fin de cycle aient été sensiblement différentes en 2001 et en 2002.

Indices de réponse au stress

Pour comparer les niveaux de résistance agronomique des lignées, deux indices de réponse au stress basés sur le rendement en gousses, STI et SSI, ont été utilisés. La comparaison de ces indices, réalisée auparavant dans des conditions similaires, avait montré que le pouvoir discriminant de STI était supérieur à celui du SSI [38]. Ce résultat a été confirmé dans cette étude : STI a permis une discrimination statistique des lignées alors que les différences entre les SSI n'ont pas été significatives (tableau 7). Par ailleurs les STI ont été positivement corrélés avec les rendements en conditions de déficit et de non déficit alors que ces corrélations n'ont pas été significatives pour les SSI (valeurs non reportées dans le tableau 6). L'indice SSI qui traduit une réduction relative de rendement confirme donc qu'il est moins pertinent et moins sélectif que STI, qui intègre la réduction de rendement et le rendement potentiel.

Variabilité des caractères physiologiques

Les discriminations entre variétés permises par les mesures du contenu relatif en eau (CRE) et l'indice foliaire (LAI), n'ont été possibles que dans de rares cas notamment en conditions de fort déficit ou lorsque la variabilité morphologique du matériel comparé était relativement élevée (cas des lignées BC73 par rapport aux lignées BC55). Les corrélations établies entre les différentes séries de mesures de ces paramètres physiologiques (mesurés à différents stades de déficit) et les rendements finaux sous les deux conditions (stress et non stress) ont été soit non significatives soit non stables en fonction des années et de la série de génotypes considérée (tableau 8). En revanche, les résultats obtenus sur les paramètres de fluorescence traduisant l'efficacité de l'appareil photosynthétique en termes de photochimie au niveau du photosystème II (PSII), ont montré une capacité de discrimination entre génotypes plus élevée (figure 5). Par ailleurs, des corrélations significatives ont été établies entre les rendements et certaines mesures de fluorimétrie notamment, le ratio de la fluorescence variable sur la fluorescence maximale (Fv/Fm) et l'indice de vitalité (SFI pour Structure-Fonction Index) pour les deux séries de génotypes et pendant les deux années de test (tableau 8). Ces

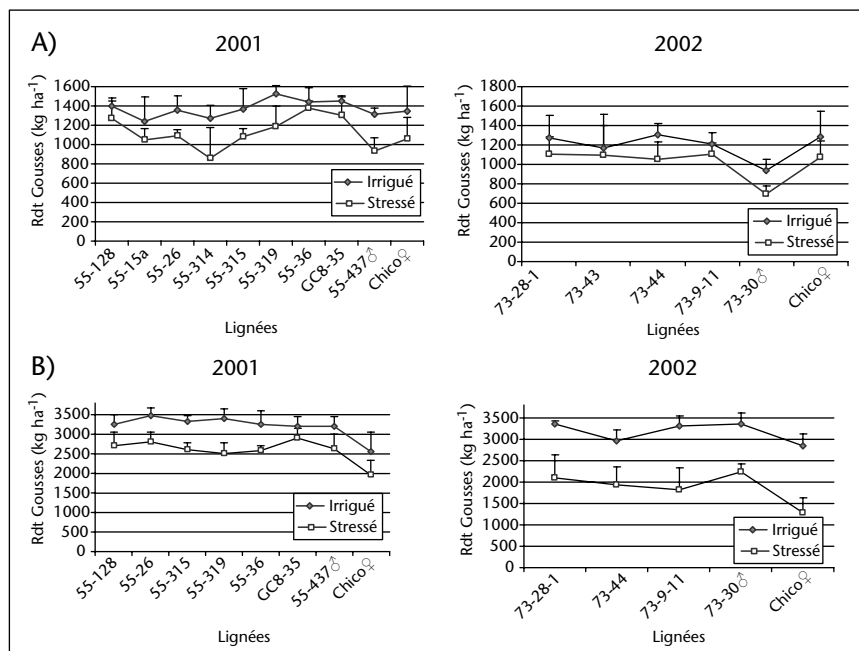


Figure 4. Rendements en gousses des lignées quasi-isogéniques BC55 en 2001 et en 2002 A) et des lignées quasi-isogéniques en BC73 en 2001 et en 2002 B) sous deux conditions d'alimentation hydrique.

résultats permettent de conclure que la tolérance du PSII a un rôle essentiel dans l'adaptation à la sécheresse de l'arachide. Cependant le sens de la plupart des liaisons établies a varié selon les années et les lignées considérées ce qui suggère des interactions entre caractères constitutifs et adaptatifs et rend difficile les explications fonctionnelles d'une portée générale.

Conclusion

Ces résultats montrent que l'arachide possède des modes d'adaptation qui varient en fonction du fond génétique du matériel testé et de la pression du déficit subit. Les mesures de CRE et de LAI sont sensibles au déficit hydrique mais ne permettent que très rarement une discrimination entre des lignées. En revanche, les nombreuses corrélations significatives obtenues entre les mesures fluorimétriques et les rendements pour les deux séries de matériels permettent d'envisager une utilisation de la fluorimétrie en sélection d'autant plus efficace que la mesure n'est pas destructive et peut être réalisée sur de grands effectifs. Cependant les corrélations établies sur les caractères accessibles *via* la fluorimétrie, ont changé de sens selon les années et les génotypes. Il semble donc difficile d'obtenir des critères physiologiques de sélection simples et généralement valides. Par conséquent la valeur de ce caractère devra être étudié au « cas par cas ».

Cette sélection par rétrocroisement pour la réduction du cycle avec maintien voire l'augmentation du rendement a donc été efficace alors qu'aucun critère physiologique n'a été utilisé. En outre, le matériel végétal sélectionné a été utile sur le plan méthodologique notamment pour établir l'intérêt des indices de réponse et de certaines mesures physiologiques pour la sélection. Il pourra également s'avérer intéressant dans le cadre de la recherche de marqueurs moléculaires. Enfin, ce programme a permis la diffusion dans le circuit du développement agricole et de la production de semences de 6 nouveaux cultivars très précoces (80 jours) dont la production est supérieure ou équivalente à celles des anciens cultivars 55-437 et 73-30 (variétés parentales de 90 jours).

Expression des gènes (transcrits) en réponse à la contrainte hydrique

Les trois grands types de mécanismes, esquivé, évitement et tolérance [39] que les plantes mettent en œuvre en réponse à la contrainte hydrique sont associés à un grand nombre de changements dans le métabolisme des plantes. Lorsque la contrainte s'intensifie, les dispositifs périphériques de protection des cellules ne sont plus efficaces et les mécanismes cellulaires impliqués dans la tolérance sont mis en place. Les mécanismes de la tolérance des cellules végétales entraînent alors des modulations du catabolisme et de l'anabolisme cellulaire induites par plusieurs cascades de signaux cellulaires et la production de nouvelles molécules qui modifient ou altèrent le fonctionnement des enzymes [40]. On considère aujourd'hui que les gènes induits par les principaux stress abiotiques appartiennent à deux groupes principaux : ceux qui protègent contre la déshydratation des cellules et ceux qui interviennent dans la régulation de l'expression des gènes (transcrits) et de la transduction des signaux [41]. Parmi les gènes induits par le stress, les plus étudiées sont les LEA (*Late-Embryogenesis-Abundant*) qui appartiennent à la catégorie des « déhydrines » appelées ainsi car elles sont directement activées par le déficit hydrique. Les LEA sont synthétisées dans les graines en développement quand la disponibilité en eau diminue notamment chez les plantes très résistantes et les plantes de résurrection [42]. Les produits des gènes activés par le stress interviennent dans la régulation de l'expression de certains gènes (transcrits) et aussi dans la transduction des signaux de la réponse [43].

Comme la majorité des contraintes abiotiques (à l'exception de la submersion) aboutissent à stress osmotique, la membrane cellulaire, par sa fonction de barrière contre un grand nombre de macromolécules et de molécules à faible poids moléculaire joue un rôle essentiel dans la tolérance cellulaire [44]. Les légumineuses, en particulier l'arachide, présentent une variabilité génétique sur le caractère de la tolérance membranaire évaluée par la méthode des efflux d'électrolytes [45, 46]. Ce mécanisme est apparu très efficace chez les légumineuses puisqu'il a

Tableau 5. Date d'apparition de la première fleur sur 50 % plants au moins (F 50 %) et pourcentages de maturité à la récolte (Mat%) des lignées BC55 et BC73 comparées aux variétés parentales en 2001 et en 2002.

Génotype	2001				2002			
	F 50%		Mat %		F 50%		Mat %	
	Irrigué	Stressé	Irrigué	Stressé	Irrigué	Stressé	Irrigué	Stressé
55-128	24,3b	24,3b	74,4a	69,0ab	23,3cd	23,0d	62,5ab	62,9ab
55-15a	24,3b	24,0b	70,7ab	61,6bcd	–	–	–	–
55-26	24,7ab	24,3b	62,8abc	60,2bcd	24,5ab	24,3ab	49,6bc	47,8bcd
55-314	24,0b	24,0b	64,1abc	48,9e	–	–	–	–
55-315	24,0b	24,0b	67,5abc	47,4e	23,3cd	23,8bcd	56,3abc	40,2de
55-319	24,0b	24,0b	70,7ab	60,0bcd	23,5cd	23,8bcd	42,2cde	40,9de
55-36	24,0b	24,0b	71,5ab	65,7abc	24,0bc	24,0bc	58,2abc	52,6abc
GC8-35	24,0b	24,0b	73,1ab	62,7abc	23,5cd	23,0cd	62,5ab	57,2abc
55-437 ♀	24,7ab	26,0a	60,4abc	45,2e	25,0a	24,3ab	38,0e	36,9e
Chico ♂	23,0c	23,0c	77,1a	72,5ab	22,8d	23,3cd	74,3a	62,0ab
Génotype (G)	***		***		***		***	
Traitement (T)	n.s.		***		n.s.		*	
G x T	n.s.		n.s.		n.s.		n.s.	

Génotype	2001				2002			
	F 50%		Mat %		F 50%		Mat %	
	Irrigué	Stressé	Irrigué	Stressé	Irrigué	Stressé	Irrigué	Stressé
73-28-1	25,3a	25,0a	62,5b	59,6b	24,5ab	24,5ab	47,4bcd	38,1cde
73-43	24,3b	23,7bc	71,2a	69,5a	–	–	–	–
73-44	24,0b	23,0c	70,1a	70,3a	22,0c	22,3c	69,1a	52,3bc
73-9-11	25,3a	25,3a	60,5b	52,5bc	24,8ab	25,0a	41,9cde	29,3de
73-30 ♀	26,0a	25,3a	48,3c	47,9c	25,3a	25,0a	26,9e	26,2e
Chico ♂	24,7b	23,3b	72,5a	74,1a	23,0bc	24,5ab	75,4a	50,9bcd
Génotype (G)	***		***		***		***	
Traitement (T)	n.s.		n.s.		n.s.		*	
G x T	n.s.		n.s.		n.s.		*	

été mis en relation avec la performance au champ des génotypes dans plusieurs études sur différentes plantes [26, 45, 47] et sur l'arachide [45].

Tableau 6. Coefficients de corrélations (r) des régressions réalisées entre les rendements en gousses (Ri pour les conditions irriguées et Rs pour les conditions de stress hydrique) selon les saisons de culture et traitements hydriques et entre les rendements en gousses et l'indice de réponse au stress STI dans les deux séries de lignées en 2001 et 2002.

	Corrélations (r) Lignées BC55	Corrélations (r) lignées BC73
Selon les traitements hydriques		
Ri et Rs en 2001	n.s.	n.s.
Ri et Rs en 2002	n.s.	n.s.
Selon les saisons de culture		
entre 2001 et 2002	0,43**	0,50**
Indice de réponse au stress		
2001		
STI – Ri	0,86***	0,45*
STI – Rs	0,72***	0,85***
2002		
STI – Ri	0,78***	0,58**
STI – Rs	0,87***	0,95***

Les valeurs de r suivies par *, **, *** indiquent que la régression est significative avec une probabilité de 0,05, 0,01, 0,001, respectivement, n.s. = non significatif.

Les travaux réalisés en collaboration avec le laboratoire d'écophysiologie moléculaire (LEPM) de l'université Paris 12 ont pour but de caractériser les gènes impliqués dans les processus de tolérance des plantes aux contraintes environnementales grâce à des méthodes basées sur la génomique fonctionnelle. Le schéma expérimental mettant en œuvre un gradient de stress a permis de montrer que les membranes cellulaires sont les cibles privilégiées de la contrainte hydrique [46, 47]. Plusieurs enzymes participant au catabolisme cellulaire ont été caractérisées sur ces espèces [48]. Les gènes correspondants ont été clonés et leur expression analysée. Ces gènes codent des acylhydrolases comme la phospholipase D [49] et des endoprotéases comme la protéinase à acide aspartique [50].

Objectif

L'objectif du travail conduit était de déterminer l'expression des transcrits de trois gènes sous l'action d'une contrainte hydrique croissante appliquée à des plantes d'arachides placées en conditions de déshydratation progressive dans un phytotron.

Matériel et méthodes

Ces profils d'expression ont été réalisés pour des gènes codant pour une phospholipase D, une protéase et une LEA. Une méthode utilisant la *Reverse Transcriptase Chain Reaction* (RT-PCR) semi quantitative a été utilisée sur chacun des trois cvs d'arachide. Elle a permis d'établir une quantification relative des taux de transcrits correspondant à ces gènes, au cours de trois stades de déshydratation des plantes (S1 à S3) et après

Tableau 7. Indices de réponse au stress basés sur le rendement en gousses, SSI et STI, mesurés sur les lignées BC55 (A) et sur les lignées BC73 (B) comparés à ceux des lignées parentales en 2001 et 2002.

Génotypes	2001		2002		
	Indices ^a	SSI (rang)	STI (rang)	SSI (rang)	STI (rang)
55-128		0,49 (2)	0,95ab (4)	0,64 (2)	0,86a (3)
55-15a		0,87 (4)	0,69c (8)	–	–
55-26		1,06 (5)	0,78b (6)	0,97 (4)	0,95a (1)
55-314		1,80 (10)	0,58c (10)	–	–
55-315		1,15 (6)	0,79b (5)	1,11 (6)	0,85a (4)
55-319		1,23 (8)	0,96ab (3)	1,32 (7)	0,83a (5)
55-36		0,22 (1)	1,06a (1)	1,04 (5)	0,82a (6)
GC8-35		0,56 (3)	1,00ab (2)	0,47 (1)	0,91a (2)
55-437 ♀		1,58 (9)	0,65c (9)	0,89 (3)	0,81a (7)
Chico ♂		1,16 (7)	0,76b (7)	1,53 (8)	0,55b (8)
Effet génotype (G)		n.s.	***	n.s.	***

Génotypes	2001		2002		
	Indices ^a	SSI (rang)	STI (rang)	SSI (rang)	STI (rang)
73-28-1		0,89 (3)	1,14a (1)	1,11(5)	0,62abc (3)
73-43		0,38 (1)	1,04a (5)		
73-44		1,31 (5)	1,12a (2)	0,91(3)	0,72ab (2)
73-9-11		0,63 (2)	1,09a (4)	0,80 (1)	0,77a (1)
73-30 ♀		1,79 (6)	0,53b (6)	0,86 (2)	0,60abc (4)
Chico ♂		1,13 (4)	1,11a (3)	1,03 (4)	0,49c (5)
Effet génotype		n.s.	***	n.s.	*

Les lettres comparent les génotypes : les moyennes suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes ($P < 0,05$) selon le test de Neuman et Keuls. Les effets sont déclarés non significatifs (n.s.) et significatifs*, **, *** à $P < 0,05$, $P < 0,01$, $P < 0,001$, respectivement.

^a SSI (Stress Susceptibility Index selon Fisher and Maurer, 1978) et STI (Stress Tolerance Index, selon Fernandez, 1992). Le tiret correspond aux génotypes non testés en 2002.

leur réhydratation (R), chaque phase étant précisée par la valeur du potentiel hydrique foliaire (ψ_{fol}).

Matériel végétal

Les réponses moléculaires à un déficit croissant ont été comparées pour trois cultivars (cvs) d'arachide de référence, Fleur 11, 57-422 et 73-30. Ces cvs ont été caractérisés auparavant au plan agronomique et physiologique [45] :

- le cv. Fleur 11 est une Spanish de 90 jours, productive en condition de stress hydrique et aussi en conditions favorables et possédant une tolérance membranaire élevée ;
- le cv. 73-30 est une Spanish de 90 jours, moins productive que Fleur 11, quelle que soit l'alimentation hydrique et dont la résistance membranaire est faible ;
- le cv. 57-422 est une Virginia de 105 jours possédant certains caractères physiologiques favorables à la résistance à la sécheresse dont une bonne tolérance membranaire mais ayant un cycle trop long pour une bonne adaptation agronomique.

Système expérimental

La sécheresse a été induite par suspension totale d'arrosage après 21 jours de croissance des plantes en conditions d'irrigation optimales. Les prélèvements ont été réalisés sur des feuilles bien développées à différents stades d'hydratation contrôlés par la mesure du potentiel hydrique foliaire (ψ_{fol}). Les ψ_{fol} ont été mesurés à la presse à membrane (Marsh Instrument Compagny) : Les niveaux de déficits hydriques étudiés ont été les suivants : $\psi_{fol} = -0,25 \pm 0,05$ MPa (Témoin), $\psi_{fol} = -1,5 \pm 0,05$ MPa (S1), $\psi_{fol} = -2,5 \pm 0,05$ MPa (S2), $\psi_{fol} = -3,5 \pm 0,05$ MPa (S3). Le niveau réhydraté (R) a été réalisé avec

des plantes S3 ré arrosées et récoltées quand le potentiel hydrique a atteint $-0,25 \pm 0,05$ MPa. Les échantillons foliaires ont été plongés dans l'azote liquide et conservés à -80 °C jusqu'à utilisation.

Quantification des transcrits

Les ARN totaux ont été extraits et purifiés sur 250 mg de tissus foliaires frais [51] au moyen du kit « Rneasy Midi kit » (Qiagen). Les ARN ont été visualisés sous UV. Dans une deuxième phase l'ADN a été amplifié par RT-PCR (Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction) avec le kit "One-Step RT-PCR" (Qiagen). Les fragments d'ADN ont été ensuite séparés par électrophorèse sur gel d'agarose, colorés au BET et visualisés sous UV. Ensuite les bandes amplifiées ont été quantifiées par densitométrie à l'aide du logiciel « Gene Tools/Gene Snap » (Syngene) qui permet d'évaluer les intensités relatives des bandes. Puis les produits de PCR ont été clonés dans le plasmide « pGEM-T Easy Vector » (A/T system, Promega). Enfin, les plasmides recombinants ont été séquencés par EGS-Cybergène (Paris, France) suivant la méthode des didéoxynucléotides [52, 53]. Les séquences obtenues ont été analysées *in silico* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

Résultats et discussion

Séquences partielles des gènes étudiés

L'utilisation de la RT-PCR sur les différentes amorces exactes (non dégénérée) étudiées a permis d'obtenir les séquences partielles des gènes codant pour la phospholipase D (PLD) et la cystéine protéase à partir de l'ARN total du cv, Fleur 11 au stade S2 qui correspond à $\psi_{fol} = -2,5 \pm 0,05$ MPa [54].

Tableau 8. Coefficients de corrélations (*r*) des régressions entre les caractères physiologiques mesurés et les rendements en gousses des lignées BC55 et BC73 pour les parcelles irriguées uniquement, les parcelles stressées uniquement et pour toutes les parcelles en 2001 A) et 2002 B).

A) 2001						
Caractères ^a	Corrélation (<i>r</i>) Lignées BC55			Corrélation (<i>r</i>) Lignées BC73		
	Irrigué	Stressé	Toutes	Irrigué	Stressé	Toutes
RWC 48 JAS	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-0,54*	-0,49*
RWC 76 JAS	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-0,58**	n.s.
LAI 48 JAS	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-0,62**	n.s.
Fv/Fm 56 JAS	nr	nr	nr	n.s.	-0,59*	n.s.
Fv/Fm 63 JAS	nr	nr	nr	0,53*	n.s.	n.s.
Fv/Fm 70 JAS	nr	nr	nr	n.s.	-0,45*	n.s.
SFI 56 JAS	nr	nr	nr	n.s.	-0,66**	n.s.
SFI 63 JAS	nr	nr	nr	n.s.	-0,46*	n.s.
SFI 70 JAS	nr	nr	nr	n.s.	-0,51*	n.s.
B) 2002						
Caractères ^a	Corrélation (<i>r</i>) Lignées BC55			Corrélation (<i>r</i>) Lignées BC73		
	Irrigué	Stressé	Toutes	Irrigué	Stressé	Toutes
RWC 48 JAS	n.s.	-0,40*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
RWC 55 JAS	n.s.	-0,79***	n.s.	n.s.	0,55**	0,66***
RWC 69 JAS	n.s.	-0,52**	-0,47**	n.s.	0,65***	0,80***
RWC 76 JAS	n.s.	-0,40*	n.s.	n.s.	0,70***	0,88***
LAI 55 JAS	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,61***	0,45*
LAI 69 JAS	n.s.	0,37*	0,50**	n.s.	0,69***	0,62**
LAI 76 JAS	n.s.	0,30*	0,47**	n.s.	n.s.	0,59**
Fv/Fm 69 JAS	0,50**	-0,55***	0,37**	n.s.	n.s.	n.s.
Fv/Fm 76 JAS	0,54**	n.s.	0,52***	n.s.	n.s.	n.s.
SFI 55 JAS	0,39*	-0,59***	0,41***	n.s.	n.s.	0,44*
SFI 69 JAS	0,60***	-0,66***	0,55***	n.s.	n.s.	0,50*
SFI 76 JAS	0,58***	-0,47*	0,63***	n.s.	n.s.	0,48*

Les valeurs de *r* suivies par *, **, *** indiquent la significativité de la régression à la probabilité 0,05, 0,01, 0,001, respectivement.

^a nombre de jours après semis (en JAS) pour les mesures de CRE (Contenu Relatif en Eau) des feuilles, LAI (Leaf Area Index) et de fluorimétrie (Fv/Fm et SFI). La fluorimétrie n'a pas été réalisée (nr) en sur les lignées BC55 en 2001.

Cinétiques des transcrits

Les quantités de transcrits pour les différents stades de déshydratation sont présentées en pourcentage par rapport au niveau témoin (T). Les analyses en RT-PCR ont montré que le gène de la PLD était stimulé par la sécheresse sur les trois cultivars (figure 6). Les cvs dont la tolérance membranaire est forte, Fleur 11 et 57-422, ont présenté une amplification maximale au stade S2 alors que le plus sensible, 73-30, a atteint le maximum plus rapidement en S1. En S3, l'expression des transcrits a été très différente selon les cvs : le niveau des transcrits a décliné fortement au stade S3 pour Fleur 11 et 73-30 alors qu'il a continué à augmenter légèrement pour 57-422. Lors de la réhydratation, les taux de transcrits a été accru de près de 20 % pour les trois cvs par rapport aux plantes témoins.

Le profil d'expression de la cystéine protéase a été qualitativement semblable pour les trois cvs. Les trois cinétiques obtenues forment une cloche plus ou moins aplatie selon le cv. (figure 7). Le maximum a été atteint en S2 mais le pic d'expression en S2 reste limité pour les cultivars résistants (Fleur 11 : + 52 % et 57-422 : + 27 %) alors que l'amplification est doublée pour le cv. sensible, 73-30. La réhydratation a induit un retour à l'expression initiale des transcrits dans les conditions des plantes témoins dans le cas des trois cvs.

Aucun transcrit de LEA n'a été détecté sur les plantes témoins, c'est pourquoi les résultats sont donnés en unités arbitraires (UA) et non en

pourcentage des témoins comme dans les cas précédents (figure 8). L'expression de la LEA étudiée a été induite par le déficit hydrique dès le stade S1 pour les trois cultivars. L'accumulation des transcrits a eu lieu dès le premier stade de sécheresse, en S1, et une forte stimulation est observée en S2 et S3 pour les cvs résistants, Fleur 11 et 57-422. La stimulation des transcrits de LEA a été plus faible à tous les stades chez le cv. sensible sauf lors de la réhydratation où un taux de transcrits très élevé a été observé pour 73-30.

Conclusion

Les cinétiques de transcrits des gènes des deux enzymes hydrolytiques testées ont été très clairement reliées au déficit hydrique subit par les plantes. Les résultats obtenus montrent que les deux gènes sont stimulés par une sécheresse modérée (stade S2) en particulier chez le cultivar sensible à faible résistance protoplasmique, 73-30. Lorsque la sécheresse devient plus intense, l'expression des gènes est plus faible pour ce cv. L'activité des transcrits de PLD en S1 et S2 semble négativement reliée à la tolérance membranaire comme de précédents résultats sur haricot et niébé l'on souligné [49, 50]. Le phénomène d'endurcissement (capacité de reprise après une phase de stress) est bien traduit par le pourcentage de transcrits obtenus en phase de réhydratation pour la PLD sur les 3 cvs. La répression de l'activité protéolytique de la cystéine protéase sous la

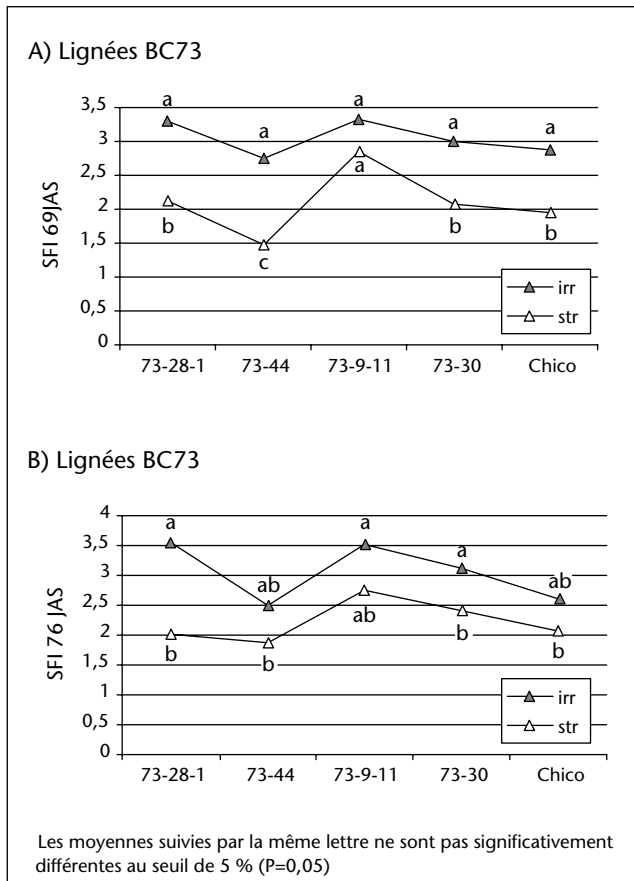


Figure 5. Structure Fonction Index (SFI) calculée à partir des mesures de fluorimétrie sur les lignées BC73 à 69 jours après semis (JAS, A) et à 76 JAS (B) en 2002.

contrainte en S1 et S2 observée chez les cvs tolérants pourrait permettre de différer les mécanismes de sénescence des tissus. Les trois cultivars d'arachide qui appartiennent à deux groupes botaniques différents, Spanish et Virginia, ont été capables de synthétiser des protéines de type LEA en réponse au stress ce qui confirme la forte capacité de tolérance à la sécheresse de l'arachide cultivée. Le profil

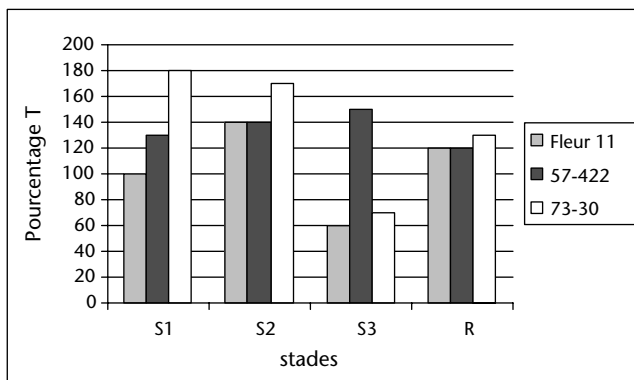


Figure 6. Cinétique des transcrits du gène de PLD en fonction de la contrainte hydrique ($\varphi_{fol} = -0,25 \pm 0,05$ Mpa (Témoin), $\varphi_{fol} = -1,5 \pm 0,05$ MPa (S1), $\varphi_{fol} = -2,5 \pm 0,05$ MPa (S2), $\varphi_{fol} = -3,5 \pm 0,05$ MPa (S3) et réhydraté (R) obtenus après réaction RT-PCR (8 μ L/25 μ L), Résultats donnés en pourcentage de variation du transcrite par rapport au témoin (T)).

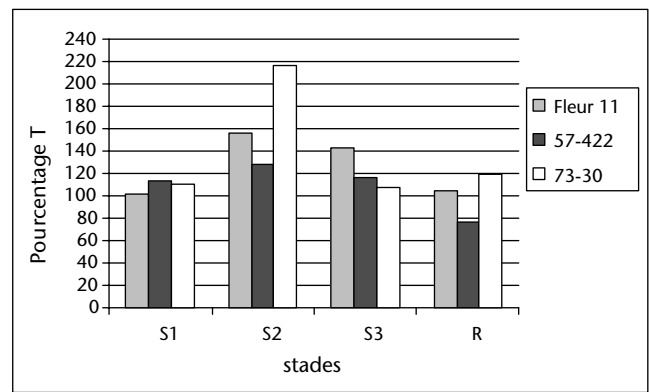


Figure 7. Cinétique des transcrits du gène de la cystéine protéase en fonction de la contrainte hydrique ($\varphi_{fol} = -0,25 \pm 0,05$ MPa (Témoin), $\varphi_{fol} = -1,5 \pm 0,05$ MPa (S1), $\varphi_{fol} = -2,5 \pm 0,05$ MPa (S2), $\varphi_{fol} = -3,5 \pm 0,05$ MPa (S3) et réhydraté (R) obtenus après réaction RT-PCR (8 μ L/25 μ L), Résultats donnés en pourcentage de variation par rapport au témoin (T)).

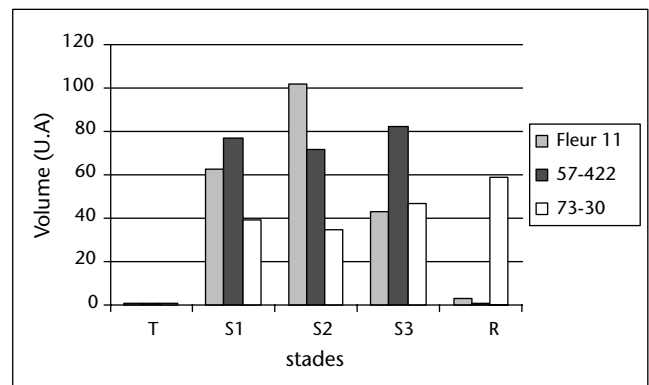


Figure 8. Cinétique des transcrits du gène de LEA en fonction de la contrainte hydrique : ($\varphi_{fol} = -0,25 \pm 0,05$ MPa (Témoin), $\varphi_{fol} = -1,5 \pm 0,05$ MPa (S1), $\varphi_{fol} = -2,5 \pm 0,05$ MPa (S2), $\varphi_{fol} = -3,5 \pm 0,05$ MPa (S3) et réhydraté (R) obtenus après réaction RT-PCR (8 μ L/25 μ L), Résultats donnés en volume de transcrits (UA : unités arbitraires)).

d'expression du gène de LEA diffère beaucoup en fonction des cultivars, l'utilisation de ce gène comme marqueur discriminant les variétés est donc potentiellement réalisable. Avant ce stade ce marqueur devra être validé sur l'arachide sur un plus grand nombre de cultivars bien différenciés en ce que concerne leur réponse agro physiologique à la sécheresse. Ces résultats préliminaires, les premiers de type obtenus sur l'arachide, ont permis une mise en relation des traits relatifs à la tolérance membranaire des cultivars testés et des cinétiques de transcrits sur les gènes-cibles observés. La technique de RT-PCR semi-quantitative permet d'observer des variations de volumes relatifs de transcrits en fonction des variétés et de la sévérité du stress et pourrait devenir un outil moléculaire d'aide au criblage de géniteurs adaptés à la sécheresse pour les programmes de sélection variétale.

Conclusions et perspectives : vers une stratégie intégrée de sélection

Bilan des résultats obtenus sur l'arachide

Le principe consistant à sélectionner dès le début du programme de sélection sur les rendements avec une forte pression de sélection dans les

conditions naturelles de contrainte hydrique au champ, a été mis en œuvre sur l'arachide. En fin de programme, on a choisi les lignées dont les rendements en conditions de bonne alimentation hydrique étaient les moins pénalisés. Cette stratégie a permis de participer au développement agricole en fournissant des cultivars plus productifs que les anciens pour les régions ciblées.

L'élargissement de la base génétique du matériel végétal pour prendre en compte les différentes stratégies d'adaptation de l'arachide est une voie à privilégier pour le long terme. Il serait notamment fructueux de poursuivre les croisements entre des arachides de type Virginia et de type Spanish afin de rassembler les caractères favorables à la croissance, la production et la tolérance cellulaire souvent présents dans les Virginia (tardives) et ceux de l'évitement généralement portés par des Spanish (précoce).

L'utilisation d'un matériel végétal approprié a permis de montrer qu'il était difficile d'établir des critères physiologiques de sélection généralement valides et capables d'améliorer le rendement quelle que soit l'origine génétique du matériel végétal. En revanche, le travail réalisé, notamment les programmes de *back cross* pour la précocité (lignées quasi-isogéniques), a prouvé qu'une sélection sur les caractères agronomiques uniquement pouvait être efficace. L'étude physiologique de ces lignées a permis de proposer les mesures de la fluorimétrie *in situ*, notamment l'indice de vitalité SFI, comme moyen indirect non destructif et rapide d'évaluer la tolérance au champ.

Nos résultats sur l'arachide montrent qu'une floraison précoce, une conductance stomatique forte et la tolérance des membranes cellulaires sont associées à une tolérance de l'appareil photosynthétique et garantissent un bon rendement dans des conditions hydriques variées. Il serait utile de confirmer si les caractères de résistance protoplasmique *ex situ* sont directement liés à la fluorescence chlorophyllienne mesurée *in situ*. Ce résultat conférerait au caractère du maintien de l'intégrité membranaire, un statut de critère de sélection majeur chez l'arachide donc utilisable en biotechnologie. À cet égard, il semble que, sur cette espèce peu connue sur le plan moléculaire, l'étude des réponses des transcrits des gènes participant à la tolérance cellulaire à la sécheresse à la dessiccation fournit des cinétiques interprétables en fonction de la résistance protoplasmique des cultivars.

Modèle général : les principes d'une approche intégrée

Depuis Levitt au début des années 80 [39] en passant par Ludlow et Muchow [54], puis Turner [26] et [24] une dizaine d'années plus tard, jusqu'aux recherches très récentes d'une plante modèle pour la biologie moléculaire [55], les chercheurs ne sont pas parvenus à mettre au point un système standardisé pour sélectionner des variétés « résistantes » à la sécheresse. Dans ce travail, nous avons donc tenté de mettre en pratique l'intégration pluridisciplinaire que chacun s'accorde aujourd'hui à promouvoir pour améliorer les rendements des cultures en conditions de sécheresse. La mise en œuvre de tels programmes a été largement encouragée par les auteurs les plus qualifiés dans ce domaine [26, 57, 58]. L'abondance des conférences scientifiques internationales visant cet objectif (Interdrought-I, Montpellier 1995 ; JIRCAS Symposium, Tsukuba, Japon, 2001 ; Journées scientifiques AUF, Marrakech, Maroc, 2002 ; Interdrought-II, Rome, 2005) en témoignent. Des appels d'offres récents (CGIAR/Challenge Programme « Water and Food » et « Generation », 2004) et d'autres initiatives en cours notamment dans le sixième programme-cadre de l'Union Européenne, invitant à fédérer les efforts montrent que beaucoup reste à faire pour accroître l'efficacité des recherches.

Le principe à la base du modèle proposé est l'interdépendance des choix génotypiques et méthodologiques dans la recherche de critères de sélection utilisables. En effet, si un processus biologique contribue théoriquement à la production finale, il serait vain de vouloir établir des

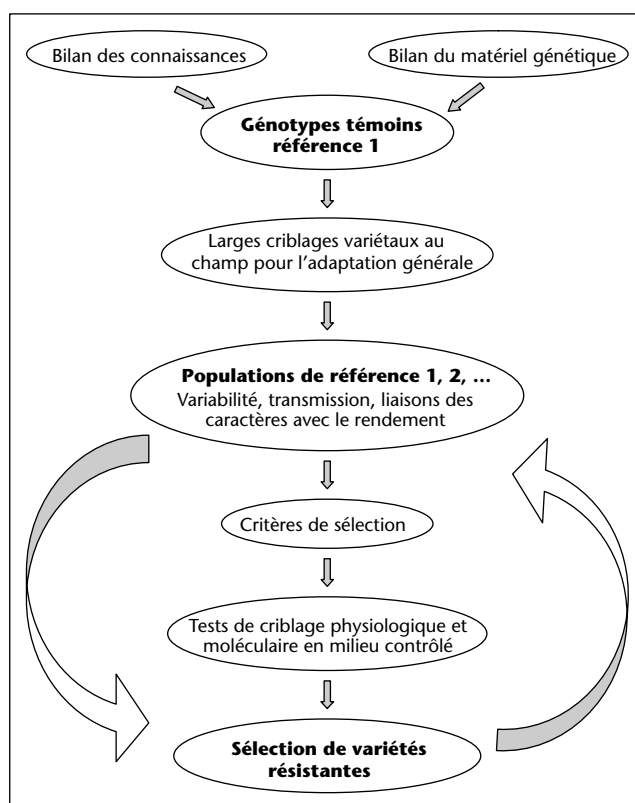


Figure 9. Modèle général pour la sélection de variétés « résistantes » à la sécheresse.

corrélations statistiques directes entre des grandeurs (de la molécule à la plante entière) de natures différentes [47, 56]. Un moyen efficace d'établir cette liaison entre disciplines est de choisir les génotypes et des dispositifs expérimentaux, dès l'origine, avec le souci de l'application pratique [56]. En corollaire, une connaissance agronomique approfondie du matériel végétal sera très utile pour comprendre les mécanismes de la réponse adaptative d'une espèce. Rappelons que la création rapide de variétés avec des longueurs de cycle adéquates et de bons rendements dans un environnement ciblé a été placée au centre des préoccupations scientifiques qui ont guidé les travaux présentés. Les approfondissements méthodologiques ont été décalés dans le temps et très ciblés sur des objectifs de création variétale. Cette recherche sur les méthodes a été réalisée de façon concomitante à la création d'un nouveau matériel végétal. Elle a abouti au modèle schématisé dans la figure 9 qui s'articule autour des principes décrits ci-dessous.

Génotypes de référence

La caractérisation et le choix de génotypes de référence constituent, selon nous, une des conditions initiales indispensables à la mise en œuvre d'une stratégie de sélection basée sur la pluridisciplinarité. Nous avons fait le postulat que le développement de méthodes et de marqueurs pour l'aide à la sélection de génotypes physiologiquement adaptés serait d'autant plus efficace que les matériels végétaux étudiés seraient proches de la réalité de la sélection sur le terrain et correctement caractérisés au plan agronomique. Cette caractérisation phénotypique au champ passe par l'utilisation d'indices de réponse au stress en termes de rendement. Ces indices sont des différentiels de rendements calculés à partir des résultats obtenus avec et sans déficit hydrique. Les dispositifs au champ doivent donc permettre de réaliser des analyses comparatives intégrant des conditions de déficit et de non-déficit afin de préciser le choix des

caractères à utiliser, À cet égard, l'indice de Fisher et Maurer [36] est largement utilisé en écophysiologie, mais, nous l'avons montré, son emploi favorisera une réduction du rendement potentiel en conditions favorables.

D'autres raisons justifient l'emploi de génotypes de référence. La première est que les modèles combinant une simulation du développement et prenant en compte les interactions génotypes × milieu ne sont pas disponibles. Dans le cas particulier de la contrainte hydrique, les interactions génotype × milieu sont à la fois à rechercher sur le plan micro-environnemental (il faut qu'un caractère soit sensible à la sécheresse pour le sélectionner) et à éviter lorsqu'on veut disposer de nouveaux cultivars à large adaptabilité. Les génotypes de référence pourront pallier à l'absence de ces modèles mais aussi alimenter en données ces modèles dans le futur.

Une autre justification à l'utilisation de tels génotypes tient à la nature de la pluridisciplinarité, Elle peut être résumée par la nécessité d'accroître les références communes afin d'augmenter le taux d'utilisation des résultats acquis par les autres disciplines par les programmes de sélection.

Variabilité génétique et critères de sélection

La condition *sine qua none* de la réussite d'un programme de sélection est relative à l'étude et à la prise en compte de la variabilité génétique des caractères d'adaptation. Pour les plantes autogames dont, à l'instar de l'arachide, la sélection n'a pas favorisé l'enrichissement génétique, il est essentiel de construire un programme de sélection permettant de disposer d'une réserve de gènes, potentiellement sélectionnables. C'est ce qui a été fait au Sénégal grâce à l'obtention d'une population par sélection récurrente.

La physiologie classique dispose d'un grand nombre de caractères « potentiels » à proposer aux améliorateurs. Il en est (ou en sera) de même avec les caractères moléculaires. En pratique, le choix d'un caractère par le sélectionneur résulte toujours d'un compromis entre le nombre de génotypes à comparer et le temps que prend la mesure : s'il y a beaucoup de génotypes les critères de sélection devront nécessairement être faciles à mesurer et si les génotypes sont en faible nombre, on pourra introduire d'autres critères. Au début d'un programme de sélection la variabilité est, en général, relativement large et les génotypes à comparer, très nombreux. De grandes parcelles d'évaluation agronomique en champ dans un milieu contraignant et représentatif seront alors nécessaires. Du fait des contraintes en disponibilité en semences en début de sélection, cette variabilité peut être observée dans une condition unique d'alimentation hydrique si celle-ci est représentative de l'environnement ciblé. Des essais au champ de ce type permettront de réduire le nombre de génotypes et de choisir (ou de créer) des séries de référence. Il est très probable que des critères physiologiques de sélection corrélés avec le rendement et généralement valides sur tout type de matériel au sein d'une espèce quelle que soit son origine génétique, n'existent pas comme nous l'avons montré sur l'arachide (chapitre 2). On ne pourra donc prendre en compte un critère physiologique que si sa « valeur » en sélection a été vérifiée auparavant dans des séries de référence réduites (lignées de même précocité ou isogéniques par exemple), représentatives du matériel à améliorer. Il faudra également déterminer la période où ces mesures sont les plus discriminantes à l'intérieur de la gamme de précocité recherchée.

Liaisons entre caractères et rendement

La production au champ est généralement le critère majeur des sélectionneurs quel que soit le type de contrainte. Pour être utilisables en sélection, les marqueurs physiologiques ou moléculaires de la résistance doivent être reliés à la production dans l'environnement ciblé. Le fait que les sélections pour le seul rendement en conditions de déficit hydrique aient montré leurs limites a été affirmé maintes fois, souvent pour des

raisons théoriques, mais rarement démontré. En effet, on conçoit bien que le rendement soit peu héritable et que certains caractères constitutifs le soient davantage. Cependant pour démontrer de façon incontestable que les sélections directes pour le rendement en conditions de sécheresse sont peu efficaces, il faudrait pouvoir les comparer avec celles qui ont été réalisées en utilisant d'autres critères. Or des études comparant des génotypes créés avec l'aide de mesures physiologiques et des génotypes créés « classiquement » n'ont pas, à notre connaissance, été publiées probablement faute d'applications pratiques disponibles. Nos résultats ainsi que d'autres sélections réalisées sur de nombreuses espèces, ont montré que les sélections directes pour le rendement étaient au contraire de bonne qualité.

Si des corrélations stables sont établies entre certains caractères mesurés sans stress hydrique et les rendements obtenus sous contrainte hydrique, il est probable que l'on ait à faire à des caractères constitutifs. Ces derniers sont très utiles car ils sont facilement détectables quelle que soit la pression de la sélection. Cependant il faudra se garder de considérer ce type de caractère comme universel du fait des nombreuses interactions possibles avec des caractères adaptatifs, lesquels varient selon le fond génétique du matériel. L'arachide a fourni l'exemple de relations fortes mais de sens variables entre rendement et paramètres de fluorescence. Ces dispositifs en double condition environnementale, plus exigeants en matériel végétal, ne pourront être mis en place que dans des séries de références réduites alors que de larges séries pourront faire l'objet d'évaluations agronomiques dans une condition unique de stress.

Dispositifs en milieu contrôlé

La réduction de la variance environnementale au champ par des dispositifs appropriés est nécessaire pour évaluer le rendement et ses composantes mais aussi les autres caractères adaptatifs. La mise au point des dispositifs en milieu contrôlé en serre voire en phytotrons doit donc être développée parallèlement aux tests du matériel génétique au champ. Les conditions d'application de la contrainte hydrique conditionnent très souvent les réponses physiologiques. On devra donc définir les conditions expérimentales qui permettent de mettre en évidence un caractère sur des lignées comparables avec le souci de trouver des critères de sélection correspondant à des variations physiologiques robustes, c'est-à-dire reproductibles et détectables à la fois en milieu contrôlé et au champ. Le système expérimental capable de les mettre en évidence devra être le plus simple possible afin de pouvoir « cribler » un grand nombre de génotypes.

Marqueurs moléculaires

L'intégration des connaissances à différents niveaux d'organisation du végétal, notamment le passage « du gène à la plante », présente des difficultés encore largement sous-estimées surtout en ce qui concerne des caractères complexes comme la « résistance » à la sécheresse [56]. Ces difficultés sont accrues par l'hyperspécialisation de la recherche et le fait que les analyses moléculaires sont en général réalisées *ex situ*. Il n'est pas raisonnable de penser que la modification d'un seul gène suffira à conférer aux plantes la propriété d'être « résistantes » à la sécheresse [58], ce serait nier les acquis de la physiologie végétale depuis quarante ans [59]. Cependant il devrait être possible d'atteindre cet objectif à condition de disposer d'un critère de sélection physiologique incontestable permettant de cibler les gènes de réponse majeurs.

Il est important que le système expérimental utilisé en génomique fonctionnelle soit étroitement connecté aux études physiologiques et agronomiques afin d'interpréter les réponses des gènes transcrits et de valider ces gènes en tant que marqueur de résistance ou de sensibilité. Cette recommandation semble évidente mais sa mise en œuvre pose de nombreux problèmes de représentativité pour le transfert des connaissances. Un travail à l'échelle moléculaire nécessite des systèmes expé-

mentaux très standardisés et répétables alors qu'une plante en champ dispose de toute une série de « stratégies » lui permettant d'exprimer sa plasticité laquelle est un atout pour l'adaptation à la sécheresse. Nous préconisons donc une approche progressive et ciblée sur un caractère relativement simple et identifié comme important. Les changements moléculaires pourront alors être discutés sur la base d'un comportement de la plante en milieu contrôlé lequel est lui-même interprété en fonction de données de champs.

Pour conclure, le modèle proposé dans le cadre de ce travail (figure 9) doit être considéré comme évolutif, à l'instar de toute proposition scientifique, mais aussi par définition. Dans le domaine complexe de la sécheresse, une approche de ce type, capable s'enrichir de résultats expérimentaux tirés de disciplines connexes, est indispensable. L'expérience montre, en effet, que dans le champ d'étude de l'adaptation à la sécheresse, la nature du végétal (ses gènes), son histoire (cycles de sécheresse et de réhydratation) et la pression exercée par son environnement conditionnent son phénotype. On doit, par conséquent, interpréter les réponses du matériel végétal au champ en serre ou sur le plan moléculaire en tenant compte de l'effet de ces trois facteurs.

RÉFÉRENCES

- CLAVEL D, DRAME NK, DIOP ND. Zuilu-Fodily. Adaptation à la sécheresse et création variétale : le cas de l'arachide en zone sahélienne. Première partie : revue bibliographique. *OCL* 2005 ; 13(3) : 249-60.
- ISLEIB TG, WYNNE JC, NIGAM SN. Groundnut Breeding. In : Smartt J, ed. *The Groundnut Crop : A Scientific Basis for Improvement*. London : Chapman & Hall, 1994 : 553-617.
- STALKER HT. Peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Field Crops Res* 1997 ; 53 : 205-17.
- ORTIZ R, EKANAYAKE I, MAHALAKSHMI V, et al. Development of drought-resistant and water-stress tolerant crops through traditional breeding. In : *Proceedings of the 8th JIRCAS International Symposium. Water for Sustainable Agriculture in Developing Regions : More Crop for Every Scarce Drop*, JIRCAS (Ed) Tsukuba, 27-28 November 2001, 2002 : 11-21.
- KHALFAOUI JLB. Genetic adaptation to drought of cultivated species and consequences on plant breeding. *Bull Soc Bot Fr* 1990 ; 137 : 125-37.
- CLAVEL D, ANNEROSE DJ. Breeding groundnut for drought adaptation in Senegal. *International Arachis Newsletter* 1997 ; 17 : 33-5.
- CLAVEL D, GAUTREAU J. Groundnut. In : *Tropical Plant Breeding*. Cirad and Science Publisher Inc (Ed) Plymouth, 2001 : 246-66.
- KHALFAOUI JLB. Approche de l'amélioration génétique de l'adaptation à la sécheresse. Cas de l'arachide au Sénégal. In : *Amélioration des plantes pour l'adaptation aux milieux arides*. Paris : AUFELF-UREF (Ed, 1991 : 51-63.
- MORTREUIL J, NDOYE O. Une nouvelle variété d'arachide pour l'Afrique : Fleur 11. *Oléagineux* 1993 ; 46 : 99-102.
- BARADAT P, LABBÉ T, BOUVET J. Conception d'index pour la sélection réciproque récurrente. Aspects génétiques, statistiques et informatiques. In : *Traitement statistique des essais de sélection. Stratégies d'amélioration des plantes pérennes*. Montpellier : CIRAD (Ed, 1995 : 101-50.
- GARRETSEN F, KEULS M. A general method for the analysis of genetic variation in complete and incomplete diallels and North Carolina 2 designs. Part I. Procedures and general formulas for the random model. *Euphytica* 1977 ; 26 : 537-51.
- BARADAT P. Use of juvenile-mature relationships in individual selection including information from relatives. In : *Proceeding of IUFRO Meeting on Advanced Generation Breeding*. Bordeaux : IUFRO (Ed, 1976 : 121-38.
- GALLAIS A. La sélection assistée par marqueurs. In : Aupelf-Uref, ed. *Quel avenir pour l'amélioration des plantes?* Paris : John Libbey Eurotext, 1995 : 387-97.
- SAPORTA G. *Probabilités, analyse des données et statistiques*. Paris : Technip (Ed, 1990.
- PAPADAKIS J. Méthode statistique pour les expériences au champ. *Bulletin scientifique d'amélioration des plantes de Thessalonique* 1937 ; 23 : 30.
- PAPADAKIS J. Comparaison de différentes méthodes d'expérimentation phytotechnique. *Rev Gen Agronom* 1940 ; 7 : 298-362.
- DAGNÉLIE D. The method of Papadakis in agricultural experimentation. An overview. *Rev Gen Agronom* 1989 ; 7 : 298-362.
- PICHOT C. *Variabilité au stade adulte de Populus trichoderma et prédiction juvénile-adulte chez P. trichocarpa et P. deltoides*. Paris : INA-PG (Ed, 1993.
- HENDERSON CR. Prediction of future records. In : *Proc Intern Conf on Quantitative Genetics, 16-21 August 1976*. PRESS, TISU (Ed, 1977 : 615-38.
- BARADAT P, LABBÉ T, OPEP. Un logiciel intégré pour l'amélioration des plantes pérennes. *Traitement statistique des essais de sélection*. Montpellier : CIRAD (Ed, 1995.
- HALWARD T, WYNNE JC. Generation means analysis for productivity in two diverse peanut crosses. *Theor Appl Genet* 1991 ; 82 : 784-92.
- SWAMY BPM, UPADHYAYA HD, GOUDAR PVK, KULLAISWAMY BY, SUBESINGH. Phenotypic variation for agronomic characteristics in a groundnut core collection for Asia. *Field Crops Res* 2003 ; 84 : 359-71.
- RICHARDS RA. Defining selection criteria to improve yield under drought. *Plant Growth Regul* 1996 ; 20 : 157-66.
- TURNER NC. Further progress in crop water relations. *Adv Agron* 1997 ; 58 : 293-338.
- NEI M. Studies on the application of Biometrical Genetics to plant breeding. In : *Memoirs of the College of Agriculture of Kyoto University, vol 32, Kyoto*. 1960 : 100.
- TURNER NC, WRIGHT GC, SIDDIQUE KHM. Adaptation of grain legume to water-limited environments. *Adv Agron* 2001 ; 71 : 193-231.
- WRIGHT GC, NAGESWARA RAO RC. Groundnut water relations. In : Smartt J, ed. *The Groundnut Crop : A Scientific Basis for Improvement*. London : Chapman & Hall, 1994 : 281-335.
- FUKAI S, PANTUWAN G, JONGDEE B, COOPER M. Screening for drought resistance in rainfed lowland rice. *Field Crops Res* 1999 ; 64 : 61-74.
- KHALFAOUI JLB. Determination of potential lengths of the crop growing period in semi-arid regions of Senegal. *Agric For Meteorol* 1991 ; 55 : 351-63.
- LAZAR M, SALISBURY C, WORRALL W. Variation in drought susceptibility among closely related wheat lines. *Field Crop Res* 1995 ; 41 : 147-53.
- NAUTIYAL PC, RAVINDRA V, JOSHI JC. Gas exchange and leaf water relations in two peanut cultivars of different drought tolerance. *Biol Plant* 1995 ; 37 : 371-4.
- WRIGHT GC, HUBICK K, FARQUHAR GD. Physiological analysis of peanut cultivar response to timing duration of drought stress. *Aust J Agric Res* 1991 ; 42 : 453-70.
- NAGESWARA RAORC, WILLIAMS JH, SIKAVUMAR MKV, WADIA KDR. Effect of water deficit at different growth phases of peanut. II. Response to drought during preflowering phase. *Agron J* 1988 ; 80 : 431-8.
- CLAVEL D, DIOUF O, KHALFAOUI JL, BRACONNIER S. Genotypes variations in fluorescence parameters among closely related groundnut (*Arachis hypogaea* L.) lines and their potential for drought screening programs. *Field Crops Res* 2006 : 296-306.
- WILLIAMS JH, DREXLER JS. A non destructive method for determining peanut pod maturity. *Peanut Sci* 1981 ; 8 : 134-41.
- FISHER RA, MAURER R. Drought resistance in spring wheat cultivars. I grain yield response. *Aust J Agric Res* 1978 ; 29 : 897-912.

37. FERNANDEZ GCJ. Selection criteria for assessing stress tolerance. In : *Adaptation of Food Crops Temperature and Water Stress, Proceedings of an International Symposium, Taiwan*. 1992 : 257-69.
38. CLAVEL D, SARR B, MARONE E, ORTIZ R. Potential agronomic and physiological traits of Spanish groundnut varieties (*Arachis hypogaea* L.) as selection criteria under end-of-cycle drought conditions. *Agronomy* 2004 ; 24 : 1-8.
39. LEVITT J. Response of plants to environmental stresses. In : *Vol 1. Water, radiation, salt and others stresses*. Academic Press (Ed), New York.
40. JAIN KJ, BASHA SM, HOLBROOK CC. Identification of drought responsive transcripts in peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Electron J Biotechnol* 2001 ; (9 pp).
41. YAMAGUCHI-SHINOZAKI K, KASUGA M, LIU Q, NAKASHIMA K, SAKUMA Y, ABE H, SHINWARI Z, SEKI M, SHINOZAKI K. Development of drought-resistant and water stress-tolerant crops through biotechnology. In : *Proceedings of the 8th JIRCAS International Symposium ; Water for Sustainable Agriculture in Developing Regions : More Crop for Every Scarce Drop*, JIRCAS (Ed) Tsukuba, 27- 28 November 2001, 2002 : 23-34.
42. SEKI M, KAMEI A, YAMAGUCHI-SHINOZAKI K, SHINOZAKI K. Molecular response to drought, salinity and frost : common and different paths for plant protection. *Curr Opin Plant Biol* 2003 ; 14 : 194-9.
43. INGRAM J, BARTELS D. The molecular basis of dehydration in plants. *Annu Rev Plant Physiol* 1996 ; 47 : 377-403.
44. VASQUEZ-TELLO A, ZUILY-FODIL Y, PHAM THI AT, VIEIRA DA SILVA JB. Electrolyte and Pi leakages and soluble sugar content as physiological tests for screening resistance to water stress in *Phaseolus* and *Vigna* species. *J Exp Bot* 1990 ; 41 : 827-32.
45. CLAVEL D, DRAME NK, MACAULEY HR, BRACONNIER S, LAFFRAY D. Analysis of early variations in responses to drought of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) cultivars for using as breeding traits. *Environ Exp Bot* 2005 ; 54 : 219-30.
46. LAURIANO JA, LIDON FC, CAMPOS PS, DO CEU MATOS CACM. Drought effect on cell membrane lipids and photosynthetic activity in different peanut cultivars. *Photosynthetica* 2000 ; 32 : 7-12.
47. BAJJI M, KINET JM, STANLEY L. The use of the electrolyte leakage method for assessing cell membrane stability as a water stress tolerance in durum wheat. *Plant Growth Regul* 2002 ; 36 : 61-70.
48. ROY-MACAULEY H, ZUILY-FODIL Y, KIDRIC M, PHAM THI AT, VIEIRA DA SILVA JB. Effect of water stress on proteolytic activities of cell compartments of *Phaseolus* and *Vigna* leaves from sensitive and resistant plants. *Physiol Plant* 1992 ; 85 : 90-6.
49. EL MAAROUF H, ZUILY-FODIL Y, GAREIL M, D'ARCY-LAMETA A, PHAM THI AT. Enzymatic activity and gene expression under water stress of phospholipase D in two cultivars of *Vigna unguiculata* L.Walp differing in their drought tolerance. *Plant Mol Biol* 1999 ; 39 : 1257-65.
50. CRUZ DE CARVALHO MH, D'ARCY-LAMETA A, ROY-MACAULEY H, et al. Aspartic proteinase in leaves of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) : enzymatic activity, gene expression and relation to drought susceptibility. *FEBS Lett* 2001 ; 492 : 342-6.
51. SANGER F, NICKLEN S, COULSON AR. DNA sequencing with chain termination inhibitors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1977.
52. SAMBROOK J, FRITSCH EF, MANIATIS T. Molecular cloning : a laboratory manual, 2nd ed. In : *Cold Spring Harbor Laboratory*. New York : CSH (Ed), 1989.
53. DRAME KN, CLAVEL D, REPELLIN A, PASSAQUET C, ZUILY FODIL Y. Water deficit induces variation in expression of stress-responsive genes in two peanut (*Arachis hypogaea* L.) cultivars with different tolerance to drought. *Plant Physiol Biochem* 2007 ; 45 : 236-43.
54. LUDLOW MM, MUCHOW R. A critical evaluation of traits for improving crop yields in water limited environments. *Adv Agron* 1990 ; 43 : 107-53.
55. MAGGIO A, JOLY RJ, HASEGAWA PM, BRESSAN RA. Can the quest for drought tolerant crops avoid Arabidopsis any longer? *J Crop Production* 2003 ; 7 : 99-129.
56. BLUM A. Crop responses to drought and the interpretation of adaptation. *Plant Growth Regul* 1996 ; 20 : 135-48.
57. PASSIOURA JB. Drought and drought tolerance. *Plant Growth Regul* 1996 ; 20 : 79-83.
58. BLUM A. Toward standard assays of drought resistance in crop plants. In : *Molecular Approaches for the Genetic Improvement of Cereals for Stable Production in Water-Limited Environment*. Mexico : Cimmyt (Ed) Cimmyt Strategic Planning Workshop, 1999 : 28-35.
59. SINCLAIR T, PURCELL L. Is a physiological perspective relevant in "genetic" age? *J Exp Bot* 2005 ; 56 : 2777-82.