

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et Écologie Végétale

N° d'ordre :28/D3C/2019

N° de série :03/EcoV/2019

Thèse de Doctorat

Présentée pour obtenir le diplôme de Doctorat 3^{ème} cycle

Domaine : Science de la Nature de la Vie

Filière : Biotechnologie, Biologie et Environnement

Spécialité : Les Bases Biologiques de la Production et Biodiversité Végétale

Présenté par :

Yacine Torche

Thème :

Identifications des déterminants génétiques pour des performances de production des polyphénols chez le haricot (*Phaseolus vulgaris* L.) dans des conditions salines.

Soutenu le : 25 Avril 2019

Membres du jury :

Président :	Pr. Youcef Kara	Université des frères Mentouri, Constantine 1.
Directrice :	Pr. Saïda Chougui	Université des frères Mentouri, Constantine 1.
Examineurs :	Pr. Rachid Merghem	Université des frères Mentouri, Constantine 1.
	Dr. Rachid Sahraoui (MCA)	Université Ferhat Abbas, Sétif 1.
	Dr. Ratiba Bousba (MCA)	Université des frères Mentouri, Constantine 1.

Année 2018/2019

Dédicaces

Je dédie ma thèse :

- ❖ À mes Parents, pour tous les efforts et les sacrifices qu'ils ont consentis pour ma formation, en témoignage de ma reconnaissance et de mon respect.
- ❖ À ma sœur et à mon frère.
- ❖ À toute ma famille et ceux qui me sont chers,
- ❖ À tous les miens,
- ❖ À tous mes amis, collègues et camarades de promotion.

Remerciements

Je tiens à remercier, le Professeur **Saïda Chougui**, pour la confiance et les encouragements bienveillants qu'elle m'a constamment témoignés pour finaliser ma thèse, et pour son haut professionnalisme lors des débats scientifiques, ainsi que pour les précieux conseils qu'elle m'a prodigués.

Mes vifs remerciements à l'ensemble des membres du jury qui m'ont fait l'honneur de bien vouloir étudier avec attention mon travail : professeur **Youcef Kara** président du jury, ainsi qu'aux examinateurs le professeur **Rachid Merghem**, docteur **Ratiba bousba** de l'université de Constantine 1, et le docteur **Rachid Sahraoui** de l'Université Ferhat Abbas Sétif 1.

Mes vifs remerciements à Monsieur **Hassan Zebiri** pour sa précieuse aide, et de m'avoir permis de travailler durant plus de trois ans dans sa pépinière et d'avoir mis tous les moyens nécessaires à ma disposition. Qu'il trouve ici l'expression de ma reconnaissance et de mon indéfectible attachement.

Ma grande gratitude au Professeur **Matthew W. Blair** responsable du laboratoire de génomique végétale de la Tennessee State University, TSU, USA, pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire, pour tous les conseils scientifiques et l'importante aide financière qui a permis la réalisation de cette thèse.

Je remercie également Monsieur **Damba Yahaya** pour son assistance lors de mon stage aux États-Unis ainsi que son aide dans la culture des haricots à la serre de la Tennessee State University.

Mes plus sincères remerciements à mes frères colombiens Monsieur **Jorge Mario Londoño** et Mademoiselle **Angelica Buitrago Bitar** pour leur assistance au laboratoire de génomique végétale, TSU, USA, et la réalisation de la partie moléculaire de cette thèse.

Abréviations

AND :	Acide Désoxyribonucléique.
ANOVA :	Analysis of variance
APX :	Ascorbate peroxydase.
AVP1 :	H ⁺ -pyrophosphatase.
BC :	Back-Cross.
BP :	Best Parent (meilleur parent).
BSA :	Bovine Serum Albumin.
BT :	Biomasse totale.
CAT :	Catalase.
CEI/EC :	Conductivité électrique/ Electrical conductivity.
CIM :	Composite Interval Mapping.
Csa :	C (Temperate) s (Dry summer) a (Hot summer).
DArT :	Diversity Array Technology.
DH :	Double Haploïdes.
EDTA :	Ethylenediaminetetraacetic acid.
EtOH :	Ethanol.
F.T :	Flavonoïdes totaux.
FAO :	Food and Agriculture Organization.
GCA :	General Combining Ability.
h_{bs}^2 :	Heritability in board sense.
h_{ns}^2 :	Heritability in narrow sense.
Ha :	Hétérozygotie.
I :	Indice de diversité de Shannon
IL :	Introgression Lines.
JMS :	Jours jusqu'à Maturité Sèche.
JMV :	Jours jusqu'à Maturité Verte.
KASP :	Kompetitive Allele Specific.
LG :	Linkage Group
MAS :	Marker Assisted Selection.
MIM :	Multiple Interval Mapping.
MP :	Mid-Parent (parent moyen).
NADPH :	Nicotinamide Adenine Dinucléotide réduite phosphate.

NEa :	Nombre effectif d'allèles
NHX1 :	sodium–proton exchanger 1.
NJ :	Neighbor Joinging.
P.G :	Poids des Graines.
P.T :	Poids Total.
PCoA :	Principal Coordinates Analysis.
PCR :	Polymerase Chain Reaction (ou réaction de polymérisation en chaîne).
PIC :	Polymorphism Information Content
PPH.T :	Polyphenols Totaux.
QTL :	Quantitative Trait Loci.
RAPD :	Random Amplification of Polymorphic DNA.
RFLP :	Restriction Fragment Length Polymorphism.
RIL :	Recombinant Inbred Lines (lignées recombinantes).
ROS :	Reactive oxygen species.
S.F :	Surface Foliaire.
SAR:	Sodium absorption rate
SCA :	Specific Combining Ability.
SIM :	Simple Interval Mapping (cartographie d'intervalle simple).
SMA :	Single Marker Analysis
SNP :	Single-Nucleotide Polymorphism.
SNuPE :	Single-nucleotide Primer Extension.
SOD :	Superoxyde dismutase.
SSLP :	Simple Sequence Length Polymorphism.
SSR :	Simple Sequence Repeats.
SSRIT :	Simple Sequence Repeat Identification Tool.
STR :	Short Tandem Repeats (répétitions en tandem courtes).
TC :	Test-Cross.
TR :	Tandem Repeats (répétitions en tandem).
TRF :	Tandem Repeats Finder.
Tris :	Trishydroxyméthylaminométhane.

Liste des Tableaux

- Tableau 1 : Classification des sols salinisés (Brady, 2002).
- Tableau 2 : Classification des eaux d'irrigation selon leurs CEI et le taux d'absorption du sodium (SAR) (Durand, 1983).
- Tableau 3 : Le croisement diallèle.
- Tableau 4 : Les génotypes parentaux utilisés pour l'étude.
- Tableau 5 : ANOVA à deux facteurs de l'effet du stress salin sur la productivité.
- Tableau 6 : Performances moyennes des génotypes parentaux sous différents niveaux de salinité.
- Tableau 7 : Croisement en demi-diallèle entre les différents génotypes.
- Tableau 8 : La matrice de corrélation entre les variables étudiées dans des conditions salines.
- Tableau 9 : L'analyse de variance à deux facteurs sur l'interaction de la salinité et les génotypes étudiés pour les traits phénologiques.
- Tableau 10 : Performance moyenne de l'effet de la salinité sur les traits phénologiques pour toute la population.
- Tableau 11 : L'analyse de variance à deux facteurs sur l'interaction de la salinité et les génotypes étudiés pour les traits physiologiques.
- Tableau 12 : Performance moyenne de l'effet de la salinité sur les traits physiologiques pour toute la population.
- Tableau 13 : L'analyse de variance à deux facteurs sur l'interaction de la salinité et les génotypes étudiés pour les traits phytochimiques.
- Tableau 14 : Performance moyenne de l'effet de la salinité sur les traits phytochimiques pour toute la population.
- Tableau 15 : Carrés moyens obtenus à partir de l'ANOVA et l'aptitude à la combinaison pour les caractères étudiés.
- Tableau 16 : Pourcentage d'hétérosis par rapport aux parents moyens (MP) et meilleurs (BP) pour tous les caractères étudiés.
- Tableau 17 : Estimation des effets à l'aptitude générale à la combinaison (GCA) et de ses composantes.
- Tableau 18 : Estimation des effets à l'aptitude spécifique à la combinaison (SCA) et de ses composantes.
- Tableau 19 : Estimation de l'héritabilité au sens large et étroit.

Tableau 20 : les différents SSRs et leurs répartitions sur le génome.

Tableau 21 : les différents SNPs et leurs répartitions.

Tableau 22 : Performance moyenne des hybrides F₂ pour tous les traits étudiés

Tableau 23 : La matrice de corrélation entre les variables étudiés dans des conditions salines.

Tableau 24: Résumé des statistiques génétiques des 29 SSRs.

Tableau 25 : Pourcentage des loci polymorphes pour chaque population

Tableau 26 : Hétérozygotie, caractéristiques et polymorphisme par population pour les données codominantes

Tableau 27 : Matrice de population par paires de distance génétique selon Nei.

Tableau 28 : Analyse à un seul marqueur pour les effets de l'AGC pour tous les traits.

Tableau 29 : Analyse à un seul marqueur pour de la population F₂ pour la tolérance à la salinité.

Liste des figures

- Figure 1 : Classification de la famille des Papilionoideae (Zhu et al., 2005)
- Figure 2 : A-Distribution de *P. vulgaris* L. ; B-Centre d'origine et diversification.
- Figure 3 : Structure des flavonols et des anthocyanes.
- Figure 4 : Représentation d'un microsatellite et d'une région flanquante CTT (tri-nucléotide) et méthode de détection.
- Figure 5 : Organigramme montrant le principe de base de la méthode SNP. (Gómez and Maloo, 2009).
- Figure 6 : Carte de liaison moléculaire du haricot commun
- Figure 7 : Modèle génétique de l'hétérosis
- Figure 9 : Principe de l'analyse à un seul marqueur.
- Figure 10 : Taux de germination des différents génotypes parentaux au 10^{ème} jour.
- Figure 11 : Nombre des gousses des différents génotypes sous stress salin.
- Figure 12 : Nombre de graines des différents génotypes sous stress salin.
- Figure 13 : Poids total (gousses et graines) des différents génotypes sous stress salin.
- Figure 14 : Pollinisation croisée du haricot commun.
- Figure 15 : Différence phénotypique des fleurs entre les parents et leurs hybrides.
- Figure 16 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.
- Figure 17 : Courbe d'étalonnage des catéchines.
- Figure 18 : Cercle de coefficient des corrélations des caractères sous des conditions salines.
- Figure 19A : Diagramme de distribution des génotypes non traités au sel
- Figure 19B : Diagramme de distribution des génotypes traités avec 50mM d'NaCl.
- Figure 19C : Diagramme de distribution des génotypes traités avec 100mM d'NaCl.
- Figure 20A : L'effet de la salinité sur le nombre de jours jusqu'à maturité verte des différents génotypes.
- Figure 20B : L'effet de la salinité sur le nombre de jours jusqu'à maturité sèche des différents génotypes.
- Figure 21A : L'effet de la salinité sur la surface foliaire des différents génotypes.
- Figure 21B : L'effet de la salinité sur le poids des racines des différents génotypes.
- Figure 21C : L'effet de la salinité sur le poids des tiges des différents génotypes.
- Figure 21D : L'effet de la salinité sur le poids des graines des différents génotypes.
- Figure 21E : L'effet de la salinité sur la biomasse totale des différents génotypes.

- Figure 22A : L'effet de la salinité sur la synthèse des polyphénols totaux des différents géotypes.
- Figure 22B : L'effet de la salinité sur la synthèse des flavonoïdes totaux des différents géotypes.
- Figure 23 : Cercle de coefficient des corrélations des caractères sous des conditions salines pour toutes les populations.
- Figure 24 : Digramme de distribution des géotypes de toutes les populations.
- Figure 25 : Diversité phénotypiques des différents hybrides F_{2:3}
- Figure 26 : Arbre phylogénétique des populations de haricot étudiées construite sur la base des données microsatellites.
- Figure 27 : Analyse de coordonnées principale des populations de haricot sur la base de données des microsatellites.

Liste des schémas

- Schéma 1 : Réponse cellulaire à la toxicité sodique (Zhu, 2003).
- Schéma 2 : La représentation des voies de biosynthèse des polyphénols.
- Schéma 3 : Représentation schématique de *Phaseolus vulgaris* L.
- Schéma 4 : Préparation des extraits éthanoliques.
- Schéma 5 : Dosage des polyphénols.
- Schéma 6 : Dosage des flavonoïdes.
- Schéma 7 : Sélection des génotypes pour l'étude génétique.

Liste des images

- Image 1 : Représentation phénotypique des six variétés de haricot.
- Image 2 : Parcelle de 50mM NaCl avec les six génotypes parentaux.
- Image 3 : Dispositif des différents génotypes sous serre (greenhouse pole, de la Tennessee State University, USA).
- Image 4 : Analyseur de surface portable LI-3000C, LI-COR Biosciences.
- Image 5: Broyeur Wiley Laboratory Mill, Model 4 3375–E10. Nashville, USA.
- Image 6 : Exemple de profile du marqueur PV-CTT001(en bas, hautement polymorphique) et du marqueur BMd41 (en haut, mono-morphique) sur gel polyacrylamide.
- Image 7 : Klustercaller snap des SNPs 12 (à gauche) et 3 (à droite).

Sommaire

Introduction générale.....	1
Chapitre 1 : Biologie de l'adaptation à la salinité de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. : Revue bibliographique	
1. La Salinité.....	5
1.1 Définition	5
1.2 Sols salins et eaux salées	5
1.3 La salinité dans le monde	7
1.4 Le stress salin	8
2. Les légumineuses	16
2.1 Classification de la sous-famille des Faboideae	16
2.2 Le Haricot (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	17
3. La variabilité génétique des plantes	21
3.1 Sources de diversité génétique	21
3.2 La diversité génétique en agriculture	22
3.3 La diversité génétique chez le haricot	23
3.4 Les approches de la diversité moléculaire	24
3.5 Les microsatellites	26
3.6 Le polymorphisme d'un seul nucléotide (SNP, <i>single-nucleotide polymorphism</i>)	28
3.7 Les QTLs pour d'importants traits d'intérêt de production	30
4. Les applications de la théorie génétique quantitative dans l'amélioration des plantes ...	33
4.1 Le concept de l'aptitude à la combinaison appliqué aux lignées pures	33
4.2 Les croisements diallèles	34
4.3 L'importance relative de l'aptitude à la combinaison	37
4.4 Les effets de l'aptitude générale et spécifique à la combinaison.....	39
4.5 Importantes considérations pour GCA et la cartographie QTL	39
4.6 La sélection assistée par marqueurs (MAS)	41
4.7 L'effet d'hétérosis	42
4.8 L'héritabilité	45
5. L'Association entre marqueurs moléculaires et traits d'intérêt	47
5.1 Analyse à un seul marqueur	47
5.2 L'application de la méthode	47
5.3 Avantages et limites de la méthode	48

6. Conclusion	49
---------------------	----

Chapitre 2 : La sélection parentale sous conditions salines et le croisement demi-diallèle chez le haricot (*Phaseolus vulgaris* L).

1. Introduction	51
2. Matériel et méthodes	52
2.1 La sélection parentale en milieu salin	52
2.2 Résultats et discussion	55
2.3 Interprétation	59
3. Le croisement demi-diallèle	61
3.1 La préparation des génotypes parentaux	61
3.2 Résultats et discussion	64
4. Conclusion	66

Chapitre 3 : Évaluation, Analyse diallèle, hétérosis et héritabilité des traits phénologiques, physiologiques et phytochimiques de la population sous stress salin.

1. Introduction	68
2. L'évaluation phénologique, physiologique et phytochimique de la population	69
2.1 La conception expérimentale	69
2.2 Mode de culture et conditions de croissance	69
2.3 Les traitements salins et le régime hydrique	70
2.4 Mesures des traits étudiés	70
2.5 L'analyse statistique	75
3. Analyses diallèle, hétérosis et héritabilité	75
3.1 Méthodes	75
4. Résultats	76
4.1 L'analyse descriptive des effets qualitatifs de la salinité sur les génotypes étudiés	76
4.2 Les traits phénologiques	79
4.3 Les traits physiologiques	81
4.4 Les traits phytochimiques	85
4.5 L'analyse diallèle, les effets d'hétérosis et l'héritabilité des traits sous stress salin	88
5. Interprétation	96
5.1 L'évaluation phénotypique	96

5.2 L'analyse diallèle, les effets d'hétérosis et l'héritabilité des traits sous stress salin	98
6. Conclusion	99

Chapitre 4 : Analyses génétiques par des marqueurs moléculaires : SSRs et SNPs

1. Introduction :	102
2. Matériel et méthodes	102
2.1 Le matériel végétal	102
2.2 Les extractions d'ADN	104
2.3 L'amplification par PCR pour les SSRs	104
2.4 L'amplification par PCR pour les SNPs	107
2.5 L'analyse des données	108
3. Résultats et interprétations	109
3.1 L'analyse factorielle des populations	110
3.2 L'amplification des microsatellites	113
3.3 La diversité génétique	113
3.4 Les relations génétiques et la structure des populations	115
3.5 L'analyse à un seul marqueur « Single marker analysis (SMA) »	119
3.6 L'analyse des SNPs	121
4. Interprétation	122
4.1 La diversité génétique	122
4.2 La structure des populations	122
4.3 L'analyse à un seul marqueur	123
4.4 Les SNPs	123
5. Conclusion	123
Conclusion générale et perspectives	125
Références bibliographiques	127

ملخص

الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو تقييم العديد من التركيب الوراثية لنبات الفاصولياء *Phaseolus vulgaris* L. المزروعة في الجزائر تبعا للصفات الفينولوجية و الفسيولوجية و الفيتوكيميائية تحت الظروف الملحية. وفقا لاستجاباتهم للتوترات الملحية و حالتهم الظاهرية تم انتقاء أربعة آباء للقيام بهذه الدراسة و إجراء التهجين النصف أليبي بين الآباء المختارة و إنتاج ستة أفراد هجينة F_1 , تم زراعة هذه الأخيرة لإنتاج الجيل الثاني F_2 عن طريق التلقيح الذاتي. زرعت هجن الجيل الأول F_1 و الجيل الثاني F_2 مع آبائها وفق تصميم القطاعات العشوائية الكاملة بواقع ثلاثة مكررات تحت ثلاث تراكيز ملحية 0 , 50 و 100 mM NaCl لتقييم الخصائص المرفولوجية و الفزيولوجية و البيوكيمائية. النتائج التي تم الحصول عليها كانت موضوع تحليل أليبي وتحليل جيني باستخدام SSRs و SNPs. بالإضافة إلى التحليل الجزيئي لعلامة واحدة لإبراز الارتباط بين المعطيات الظاهرية و الجينية. كشف التحليل الأليبي أن هناك اختلافات وراثية جد معنوية بين الآباء الأربعة والأفراد الستة للجيل الأول F_1 , و أن القدرات العامة و الخاصة على التوافق لهذه التركيب الوراثية كانت جد معنوية لجميع المعايير المدروسة تحت الظروف الملحية , كما أسفرت النتائج على هيمنة الفعل الوراثي التراكمي على الفعل الوراثي اللاتراكمي في توريث الصفات المدروسة. تم التأكد أن النمط الوراثي للآباء Améiore Roza و Coco nain هي أفضل التركيب الوراثية المقاومة للملوحة في حين أن الأفراد الهجينة Amina x Améiore roza; MGT x Améiore roza و Coco nain x Amina سجلت أعلى نسب قوة الهجين. أظهرت الدراسة الجزيئية ان الأفراد الناتجة من التهجين الأليبي لهم تنوع وراثي كبير كما أنه يمكن استعمال هذه الأفراد في إنتاج RILs لاحقا. إضافة إلى ذلك فان التحليل وحيد العلامة كشف ان العلامات SSRs لهم عدة ارتباطات مع المعايير المدروسة. أظهرت العلامات BM200 (LG6) BMd37 و ATA243 (LG1) وجود ارتباط قوي مع إنتاج البوليفينول والفلافونويد الكلي، و أن هذه العلامات يتوقع أن تكون مرتبطة بجينات فعالة لها علاقة بمقاومة الملوحة. هذه النتائج تشير إلى وجود تغيرات جينية عالية لدى افراد الفاصولياء واحتمال التحسين الوراثي تحت الظروف الملحية، لاسيما بالنسبة لتخليق مركبات الأيض الثانوي.

الكلمات المفتاحية: *P. vulgaris* ، الملوحة ، التحليل الأليبي ، علامات SSRs et SNPs.

Résumé

L'objectif principal de la présente étude est l'évaluation de plusieurs génotypes de haricot *Phaseolus vulgaris* L. cultivés en Algérie pour des traits phénologiques, physiologiques et phytochimiques en conditions de stress salin. Selon leurs réponses à la salinité et leurs phénotypes quatre parents ont été sélectionnés. Pour mener cette étude un croisement demi-diallèle entre les parents retenus a permis de produire six hybrides F₁ ; les six hybrides F₁ ont été plantés pour permettre une autofécondation et la production des hybrides F₂. Tous les hybrides F₁ et F₂ et leurs parents ont été plantés dans un design aléatoire complet avec trois concentrations d'NaCl 0, 50 et 100 mM pour l'évaluation des caractères phénologiques, physiologiques et phytochimiques, les résultats obtenus ont fait l'objet d'une analyse diallèle puis d'une analyse moléculaire à l'aide de marqueurs SSRs et SNPs ainsi qu'une analyse à un seul marqueur pour mettre en évidence la corrélation entre les données phénotypiques et génétiques. L'analyse diallèle a révélé des variations génotypiques très significatives entre les quatre parents et leurs six hybrides F₁. Les aptitudes générales et spécifiques à la combinaison sont très significatives pour tous les traits étudiés sous toutes les conditions, révélant le rôle important des effets génétiques tant additifs que dominants sur l'hérédité des caractères sous études. Les génotypes parentaux Améliore Roza et Coco nain se sont avérés les meilleurs combineurs pour la tolérance à la salinité; de plus les hybrides Amina x Améliore Roza; MGT x Améliore Roza et Coco nain x Amina ont enregistré un pourcentage d'hétérosis très significatif. L'étude moléculaire montre que les populations issues du croisement diallèle ont une grande diversité génétique, ces populations peuvent être utilisées ultérieurement pour la production des RILs ; de plus l'analyse à un seul marqueur révèle que plusieurs marqueurs SSRs ont été associés aux différents traits étudiés, les marqueurs BMd37 (LG6) BM200 et ATA243 (LG1) ont montré une forte association à la production des polyphénols et des flavonoïdes totaux, ces marqueurs peuvent être liés à de grands gènes impliquant une tolérance à la salinité. Ces résultats indiquent une grande variabilité génétique chez les populations des haricots et une possibilité d'amélioration génétique sous stress salin notamment pour la biosynthèse de métabolites secondaires.

Mots clés : *P. vulgaris* ; Salinité ; Analyse diallèle ; Marqueurs SSRs et SNPs.

Abstract

The main objective of the present study is the evaluation of several genotypes of beans *Phaseolus vulgaris* L. cultivated in Algeria for phenological, physiological and phytochemical traits under salt stress conditions. According to their responses to salinity and their phenotypes, four parents were selected. To carry out this study a half-diallel cross between the parents was undertaken producing six F₁ hybrids; the six F₁ hybrids were planted to allow self-fertilization and the production of the F₂ offspring. All F₁ and F₂ populations and their parents were planted in a complete randomized block design, under three salt treatments 0, 50 and 100mM for the evaluation of phenological, physiological and phytochemical characteristics, the results obtained were subjected to diallel analysis and then genetically analyzed using SSRs and SNPs as well as a single marker analysis to highlight the correlation between phenotypic and genotypic data. The diallel analysis revealed high significant genotypic variations between the four parents and their six F₁ hybrids. General and specific combining abilities were highly significant for all traits studied under all conditions, revealing the important role of both additive and dominant genetic effects for heredity of the traits under study. Parental genotypes Améiore Roza and Coco nain proved to be the best combiners for salinity tolerance; on the other hand the hybrids Amina x Améiore Roza; MGT x Améiore Roza and Coco nain x Amina recorded a high significant percentage of heterosis. Molecular analysis showed that populations from the half diallel cross have a high genetic diversity, these populations can be used later for the production of RILs; in addition, single marker analysis revealed that several SSRs markers were associated with the different traits studied, the markers BMd37 (LG6) BM200 and ATA243 (LG1) showed a strong association with the production of polyphenols and total flavonoids, these markers can be linked to important genes implying a salinity tolerance. These results indicate a high genetic variability in bean populations and a possibility of genetic improvement under salt stress, especially for the biosynthesis of secondary metabolites.

Key words : *P. vulgaris* ; Salinity ; Diallel analysis ; SSRs and SNPs markers.

Introduction générale

Le rendement d'une culture est influencé par deux types de facteurs majeurs : des facteurs génétiques et des facteurs environnementaux (Lin and al., 2007) ; un des facteurs environnementaux les plus complexes est la salinité.

La salinité est l'un des principaux facteurs de stress abiotique qui limite la croissance, le métabolisme et la productivité des plantes (Khan and Panda, 2008). Dans les zones arides et semi-arides comme l'Algérie, il pourrait être causé par l'eau d'irrigation qui contient des quantités considérables de sels solubles; l'accumulation des sels dans la couche supérieure du sol causée par une irrigation excessive; la proximité de la mer et l'augmentation de la capillarité provenant des eaux souterraines dans la zone racinaire en raison de l'évaporation. De plus, un taux d'évaporation élevé, une mauvaise gestion de l'eau et de faibles précipitations pourraient augmenter les niveaux de la salinité dans ces zones et de facto induire un important stress salin (Gama et al., 2007).

La salinité affecte tous les aspects de la physiologie et de la biochimie des plantes et réduit considérablement le rendement. Les plantes qui poussent dans des conditions salines sont stressées de plusieurs façons, réduction du potentiel hydrique dans la zone racinaire entraînant un déficit hydrique, une phytotoxicité des ions causée principalement par le Na^+ et le Cl^- , un déséquilibre des nutriments par la dépression dans l'absorption ou le transport racinaire et des dommages oxydatifs (Khan and Panda, 2008, Rozena and Flowers, 2008, Taïbi et al., 2016).

Le haricot commun est l'une des cultures de légumineuses les plus importantes à l'échelle mondiale, il contient des quantités considérables de protéines, de fibres, de glucides, de vitamines et de minéraux et représente près de la moitié des légumineuses à grains consommées dans le monde (Duc et al., 2015). La présence des composés phytochimiques tels que les composés polyphénoliques prévient divers troubles comme les maladies cardiovasculaires, la glycémie, l'obésité et le cancer du côlon ; en outre, il présente une activité antioxydante élevée (Pinheiro et al., 2010; Hayat et al., 2014). Le haricot commun est également essentiel en agriculture car, avec les rhizobiums, bactéries fixatrices d'azote, il forme des nodules racinaires via des associations symbiotiques, enrichissant ainsi le sol (Broughton, 2003).

Étant une espèce glycophyte, le haricot voit sa productivité considérablement réduite aux niveaux de salinité des sols supérieurs à 2 dS m⁻¹ (Läuchli, 1984). Le haricot commun est connu pour exclure le Na⁺ des feuilles, mais prend le Cl⁻ en proportion de la concentration externe. Les concentrations élevées de Cl⁻ dans les feuilles réduisent la croissance en modifiant l'équilibre nutritionnel de la plante, ce qui affecte l'assimilation du CO₂ (Bayuelo-Jiménez et al., 2003) et altère les relations hydriques. Il existe plusieurs études démontrant l'effet de la salinité sur la croissance des haricots (Cabot et al., 2009, Taïbi et al., 2016).

Sous stress salin, l'augmentation des enzymes et des molécules antioxydantes représente une partie du mécanisme de la tolérance au sel chez le haricot commun (*Phaseolus vulgaris* L.). En effet une variation a été observée dans la concentration en peroxyde d'hydrogène, en teneur totale des composées phénoliques, de proline et des activités de la peroxydase et de la polyphénol oxydase. Cependant, bien qu'un grand nombre d'adaptations génétiques aux conditions salines aient été observées chez un certain nombre d'espèces de légumineuses, les mécanismes sous-jacents de la tolérance au stress oxydatif, ioniques ou autres chez les végétaux induits par ces adaptations génétiques, y compris le haricot, sont mal compris (Noren and Ashrafa 2009).

Plusieurs méthodes de recherche sont utilisées pour développer de nouvelles variétés résistantes aux différents stress biotiques et abiotiques, l'analyse diallèle est en effet très utile pour détecter très tôt (dans les générations F₁ et F₂) les variétés sensibles de présenter une tolérance, notamment au stress salin, en plus les développements récents dans la recherche moléculaire, essentiellement les SSRs et les SNPs, pour étudier le profil d'expression génique sont apparus comme un outil important pour comprendre comment les différentes variétés de haricot réagissent aux stress biotiques et abiotiques. Au cours des dernières années, on a accumulé des rapports sur le séquençage de l'ADN et le profil d'expression à la fois sur des plantes modèles et des cultures importantes sur le plan agricole tel que le haricot, pour identifier les gènes impliqués dans les réponses aux différents stress. Bien que des assemblages de données génétiques ont récemment été mis au point chez les légumineuses (Libault et al., 2010 ; Wu et al., 2013), il existe encore très peu d'études sur l'analyse du génome dans des conditions de stress salin chez le haricot commun.

L'amélioration de la tolérance au sel est l'un des objectifs les plus importants dans les programmes de sélection du haricot. Cependant, la mise au point de variétés de haricot

tolérantes au sel par le biais de la sélection conventionnelle prend du temps et demande beaucoup de travail en raison de la nature quantitative de la tolérance à la salinité.

Notre travail consiste en l'identification des régions génomiques associées à la tolérance au sel qui permettra aux sélectionneurs de développer des variétés tolérantes à la salinité en utilisant l'analyse diallèle couplée à l'analyse moléculaire (Analyse à un seul marqueur), ce qui contribue à accroître le pouvoir de sélection. Ainsi, une meilleure compréhension des réponses physiologiques et phytochimiques au stress salin peut être utile dans les programmes menés pour produire des cultures tolérantes à la salinité.

Notre thèse s'organise en quatre chapitres :

Le premier chapitre est une synthèse bibliographique relative à la biologie du haricot commun et les effets du stress salin sur cette dernière. Le chapitre s'organise sur cinq points majeurs : la salinité ; le haricot (*Phaseolus vulgaris* L.) ; La variabilité génétique des plantes ; L'application de la théorie génétique quantitative dans l'amélioration des plantes et l'association entre marqueurs moléculaires et traits d'intérêt.

Le second chapitre traite de la sélection parentale en milieu salin ; nous procéderons aux croisements diallèles des différents parents sélectionnés (ayant des réponses contrastées en milieu salin) pour la production des populations.

Le chapitre trois est consacré à l'évaluation ainsi que l'analyse diallèle et l'étude de l'effet d'hétérosis et de l'héritabilité des caractères phénologiques, physiologiques et phytochimiques en milieu salin de toutes les populations.

Enfin le chapitre quatre traite de l'analyse génétique et moléculaire à l'aide de marqueurs génétiques, et l'investigation de la diversité génétique ainsi que l'association génotypes-phénotypes.

Chapitre 1

Biologie de l'adaptation à la salinité

de *Phaseolus vulgaris* L. :

Revue bibliographique

1. La Salinité :

1.1 Définition :

La salinité des sols et celles des eaux d'irrigation désigne la surcharge de ces derniers en sels minéraux solubles. Elle est causée principalement par la combinaison de quatre cations (Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ et Na^+) et de quatre anions (Cl^- , SO_4^{2-} , NO_3^- et HCO_3^-) (Hu and Schmidhalter, 2001 ; Geetanjali and Neera, 2008). Les sols salins se caractérisent par la présence dans la rhizosphère de sels solubles en concentration suffisamment élevée pour nuire à la plupart des organismes végétaux (Munns and Termaat, 1986). La salinité du sol est causée par une combinaison de plusieurs facteurs géologiques, climatiques et agronomiques (Rengasamy, 2006), la salinité qui était présente avant la colonisation des terres est souvent appelée salinité primaire, tandis que les cas de salinité qui sont supposés s'être développés principalement après cette colonisation sont souvent appelés remontées salines ou salinisation secondaire (Ghassemi et al., 1995).

1.1.1 La salinité d'origine primaire :

Près de 80 % des terres salinisées ont une origine naturelle (édaphique), la salinisation est dite primaire. Dans ce cas, celle-ci est due à la formation des sels pendant l'altération des roches ou à des apports naturels externes (vent, gel, dégel et pluies souvent acides, chargées de H_2CO_3) ou comme dans les régions côtières, l'intrusion de l'eau salée et la submersion des terres basses et la remontée des nappes phréatiques salées près de la zone racinaire (Mermoud, 2006).

Ce type de sol est très fréquent dans les zones arides et semi-arides dû à une évapotranspiration proportionnelle au climat, qui dépasse largement la quantité d'eau arrivée au sol (Antipolis, 2003).

1.1.2 La salinité d'origine secondaire :

Près de 20% des terres salinisées ont une origine anthropique ; elles sont dites secondaires, dues principalement à l'irrigation avec une eau de mauvaise qualité (eau saline), un lessivage insuffisant et un drainage défaillant. Une fertilisation chimique excessive contribue aussi à une accumulation des sels dans la rhizosphère (Le goupil, 1974 ; Mohouche and Boulassel, 1999).

1.2 Sols salins et eaux salées :

La salinité des sols et celles des eaux d'irrigation sont évaluées par leurs conductivités électriques (CEI ou EC) à 25°C. Cette dernière est exprimée en décisiemens par mètre (ds/m)

qui est équivalente au mmhos par centimètre (mmhos/cm). Les sols salins sont caractérisés par un niveau toxique des chlorures et sulfates de sodium, un sol est dit salin lorsqu'il présente une CEI supérieure à 4 dS/m à 25°C l'équivalent de 40 mM (Shirokova et al., 2000).

Le Comité d'experts sur la prospection pédologique formé en 1984 a classé les sols salins selon leur teneur en sels : modérée ou forte (tableau 1) (Brady, 2002).

Les eaux dont la CEI est inférieure à 0,25 mmhos/cm sont faiblement salines alors que celles dont la CEI est comprise entre 0,75 et 2,25 mmhos/cm sont très salines. Une autre classification des eaux d'irrigation (tableau 2) est proposée par Durand (1983) celle-ci est basée sur la conductivité électrique et le taux d'absorption du sodium (SAR).

Tableau 1 : Classification des sols salinisés (Brady, 2002).

Classification	Conductivité électrique (dS m ⁻¹)	pH du sol	Ratio d'adsorption du sodium	Condition physique du sol
Saline	> 4.0	< 8.5	< 13	Normal
Salin-sodique	> 4.0	< 8.5	> 13	Normale
Sodique	< 4.0	> 8.5	> 13	Pauvre

Tableau 2 : Classification des eaux d'irrigation selon leurs CEI et le taux d'absorption du sodium (SAR) (Durand, 1983).

Classe de salinité	CEI (mmhos/cm)	Degré de salinité
C ₁	0,00 à 0,25	Faible
C ₂	0,25 à 0,75	Moyen
C ₃	0,75 à 2,25	Fort
C ₄	2,25 à 5	Très fort
C ₅	> 5	Excessif
Classe d'alcalinité	SAR	Degré d'alcalinité
S ₁	< 10	Faible
S ₂	10 à 18	Moyen
S ₃	18 à 26	Fort
S ₄	> 26	Très fort

1.2.1 Classification des sols salins :

On distingue deux types de sols salins, les sols salins proprement dit et les sols alcalins.

1.2.1.1 Les sols salins :

Ce sont des sols riches principalement en sels de sodium (NaCl : chlorure de Sodium, Na₂SO₄ : sulfate de sodium) mais contenant également des quantités plus au moins

importantes d'ions chlorite, calcium et magnésium. On trouve généralement ces sols dans les régions arides et semi-arides (Brady, 2002).

1.2.1.2 Les sols alcalins :

Les sols alcalins sont riches en sodium échangeable et en revanche pauvres en sels solubles (sels alcalins, carbonates et bicarbonates de sodium, Na_2CO_3 principalement). Les sols alcalins se trouvent plutôt dans les zones semi-arides et sub-humides (Brady, 2002).

1.3 La salinité dans le monde :

Bien que difficile à estimer avec précision, la superficie des sols salinisés augmente, et ce phénomène est particulièrement intense dans les sols irrigués. On estime qu'environ 20% des terres irriguées, produisant un tiers de la nourriture mondiale, sont affectées par le sel (Shrivastava and Kumar, 2015). Dans la région méditerranéenne, la dégradation des terres associée à l'alcalinisation du sol pourrait s'aggraver à un rythme accéléré dans les prochaines décennies, en raison de l'augmentation attendue des surfaces irriguées et de la raréfaction de l'eau de bonne qualité (Bowyer et al, 2009). La quantité de terres agricoles mondiales détruites chaque année par l'accumulation de sel est estimée à 10 millions d'hectares (Pimentel et al, 2004). Ce taux peut être accéléré par le changement climatique, l'utilisation excessive des eaux souterraines (principalement près de la mer), l'utilisation croissante d'eau de mauvaise qualité dans l'irrigation, l'irrigation massive associée à une agriculture intensive et un mauvais drainage. On estime que d'ici 2050, 50% des terres arables de la planète seront touchées par la salinité (Bartels and Sunkar, 2005).

En Afrique, près de 40 millions d'hectares y sont affectés, soit près de 2% de la surface totale. Au Proche-Orient, près de 92 millions d'hectares soit environ 5% de la surface totale (FAO, 2008).

1.3.1 La salinité en Algérie :

En Algérie la majorité du territoire est semi-aride et aride (steppique et saharien), leur superficie couvre près de 95% du territoire. Les sols agricoles sont dans leur majorité, affectés par la salinité ou susceptibles de l'être dans le futur proche. Les sols salins sont très répandus dans les basses plaines près des côtes, dans la vallée de Mina près de Relizane, sur les hautes plaines notamment le Constantinois, et au bord des chotts. Ils ont aussi une grande extension dans les régions sahariennes au sud de Biskra jusqu'à Touggourt, Ouargla et au-delà (Durand, 1958).

1.4 Le stress salin :

Le stress dû au sel est une condition où des sels excessifs dans la solution du sol provoquent une inhibition de la croissance voir la mort des plantes. À l'échelle mondiale, aucune substance toxique ne limite davantage la croissance des plantes que le sel. Le stress salin présente une menace croissante pour l'agriculture. Parmi les diverses sources de salinité du sol, l'irrigation associée à un mauvais drainage est la plus grave, car elle représente des pertes de terres agricoles autrefois productives (Zhu, 2007).

1.4.1 L'effet du stress salin sur les plantes :

Le stress salin affecte la physiologie de la plante tout entière, ainsi qu'aux niveaux cellulaires et moléculaires et à tous les stades de développement de la germination à la sénescence (Murphy et al., 2003). Les effets signalés comprennent les changements dans le taux de croissance, la toxicité des ions, la limitation des minéraux, l'instabilité membranaire, l'effet sur la photosynthèse et l'augmentation de la respiration (Ashraf and Shahbaz, 2003, Munns, 2002). L'accumulation de grandes quantités de sels dans l'apoplaste des feuilles entraîne une déshydratation et une perte de turgescence (Marschner, 1995), tandis que l'accumulation de sel dans le cytosol et les organites entraîne l'inhibition des enzymes et des voies métaboliques incluant la photosynthèse (de Lacerda et al., 2003).

Le stress salin affecte les plantes de plusieurs façons : Réduction du potentiel hydrique dans la zone racinaire causant un déficit hydrique ; toxicité spécifique des sels inhibant les enzymes et les voies métaboliques ; déséquilibre des ions nutritifs dû aux niveaux élevés des ions Na^+ et Cl^- entrant en compétition avec d'autres ions essentiels et l'augmentation de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) qui endommage tous les types de macromolécules (dommage oxydatif). Ces différents modes d'action seront brièvement décrits dans les prochaines sections, suivis d'une enquête sur les réponses suscitées par les stress salins. (Lauchli, 1986 ; Taibi et al., 2016).

Le sodium (Na^+) est transporté passivement dans la cellule par des canaux cationiques non sélectifs (NSCC), où il est détecté par un système sensoriel non identifié. Ensuite, Ca^{2+} , ROS et les hormones activent des cascades de signalisation qui régulent l'expression de plusieurs gènes liés au stress (NUCLEUS), entraînant l'activation des voies de détoxification cellulaire. Deux mécanismes agissent pour diminuer la concentration de Na^+ cytosolique dans la cellule, l'une consiste à exclure le Na^+ à travers la membrane plasmique par l'échangeur Na^+/H^+ , l'autre mécanisme consiste à compartimenter le Na^+ en vacuoles par l'antiporteur Na^+/H^+ vacuolaire, NHX1. Les deux activités de transport nécessitent un gradient H^+ à travers

les membranes, qui est généré par une membrane H^+ -ATPase de la membrane plasmique ou par la H^+ -ATPase vacuolaire et la H^+ -pyrophosphatase (AVP1). L'accumulation d'osmoprotecteurs tels que la bétaine, la proline et les polyols est également induite par le stress salin (Zhu, 2003) (Schéma1).

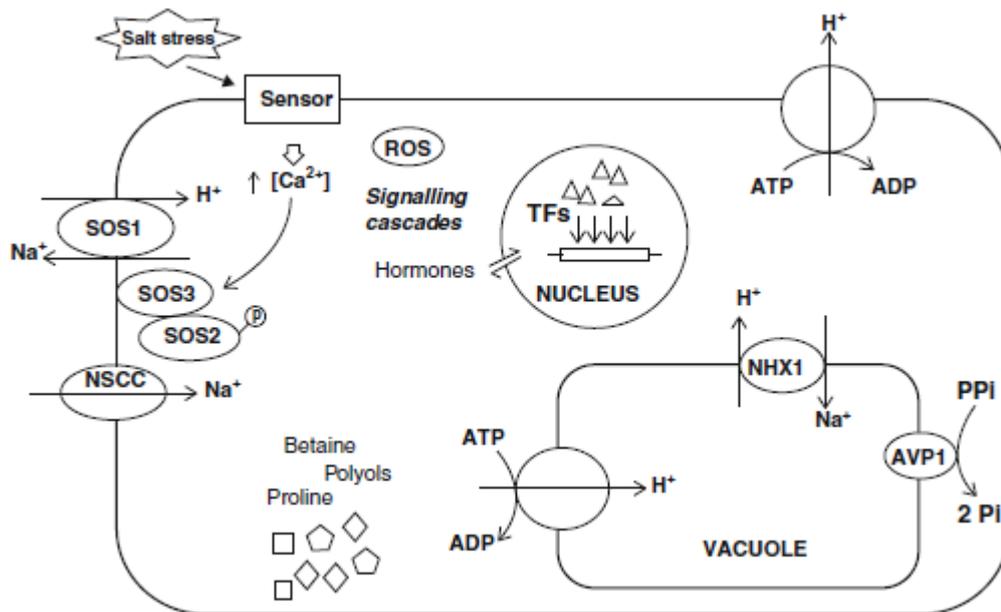


Schéma 1 : Réponse cellulaire à la toxicité sodique (Zhu, 2003).

1.4.1.1 La déficience hydrique :

L'accumulation des sels dans les sols réduit la capacité de la plante à absorber l'eau de la rhizosphère, ce qui entraîne une limitation de l'eau et une réduction de la croissance. Ce processus est le premier à se produire dans une plante stressée par le sel, il est formellement analogue à un déficit hydrique. En effet, certains processus cellulaires et métaboliques impliqués dans les réponses osmotiques à la salinité sont communs à la sécheresse, y compris la fermeture stomatique. Les taux auxquels de nouvelles feuilles sont produites dépendent largement du potentiel hydrique du sol, de la même manière que pour une plante stressée par la sécheresse. À ce stade, les sels ne s'accumulent pas dans les tissus en croissance à des concentrations qui pourraient inhiber la croissance, car les cellules qui s'allongent rapidement peuvent accueillir le sel qui arrive dans le xylème dans leurs vacuoles en expansion (Munns, 2005).

1.4.1.2 L'ajustement osmotique :

Des réductions du taux de croissance des feuilles et des racines sont dues à un stress hydrique plutôt qu'à un effet spécifique au sel (Munns, 2002), puisque le Na^+ et le Cl^- sont

généralement en dessous des concentrations toxiques dans les cellules en croissance. Les résultats de la manipulation expérimentale des relations eau-tige suggèrent que les signaux hormonaux, probablement induits par l'effet osmotique du sel sur les racines, contrôlent le taux d'allongement des cellules (Munns et al., 1999). L'inhibition de la croissance des plantes due à la salinité dépend largement de la sévérité du stress. Les difficultés osmotiques légères conduisent rapidement à une inhibition de la croissance des feuilles et des tiges, alors que les racines peuvent continuer à s'allonger (Hsiao and Xu, 2000). Le degré d'inhibition de la croissance dû à ce stress osmotique dépend également de l'échelle du temps de la réponse pour le tissu et l'espèce et de l'imposition brutale ou progressive des traitements de stress (Munns et al., 1999).

1.4.1.3 La toxicité ionique :

Comme les sels sont absorbés par la plante, ils ont tendance à se concentrer dans les vieilles feuilles. Cependant, le transport continu dans les jeunes feuilles transpirantes sur une longue période, qui dépasse la capacité de ces feuilles à exclure les sels de leurs cellules ou à les compartimenter dans la vacuole. Les sels s'accumulent alors dans le cytosol et inhibent l'activité enzymatique. Alternativement, ils peuvent s'accumuler dans les parois cellulaires et déshydrater ces dernières (Munns, 2005). Ces effets spécifiques d'ions tels que le Na^+ et le Cl^- suivent les stress hydriques et osmotiques qui déclenchent le syndrome du stress salin.

Dans des conditions normales de croissance, les concentrations d' Na^+ dans le cytosol des cellules racinaire sont probablement de l'ordre de 10 à 30 mM (Tester and Davenport, 2003). De même que pour les feuilles (Jones and Gorham, 2002).

Les racines doivent exclure la plus grande partie du Na^+ et du Cl^- dissous dans la solution du sol, sinon la concentration de sel dans les parties aériennes augmentera graduellement jusqu'à atteindre des niveaux toxiques. Les plantes transpirent environ 50 fois plus d'eau qu'elles n'en conservent dans leurs feuilles, ceci rend l'exclusion particulièrement difficile (Munns, 2005).

Les concentrations inhibitrices du Na^+ varient en fonction de la réaction et du métabolisme, tandis que les concentrations auxquelles le Cl^- devient toxique sont moins définies. Les voies métaboliques affectées comprennent la photosynthèse, l'assimilation de l'azote par les nitrates et les nitrites réductases et le métabolisme du malate (Parida and Das, 2005). L'augmentation des taux du Na^+ dans les tissus végétaux a également des effets toxiques sur la germination des graines, principalement en modifiant les relations hydriques

des plantes et en remplaçant le Ca^{2+} par le Na^+ des sites critiques de fixation des parois cellulaires, ce qui pourrait perturber la croissance végétale (Xue et al., 2004).

1.4.1.4 Le déséquilibre nutritionnel :

Un déséquilibre ionique se produit dans les cellules en raison de l'accumulation excessive d' Na^+ et de Cl^- qui réduit l'absorption d'autres nutriments minéraux, tels que le K^+ , Ca^{2+} , et Mn^{2+} (Karimi et al., 2005). Le sodium et le potassium sont importés dans la cellule en utilisant la même série de transporteurs, et les cations sont en concurrence les uns avec les autres. L'excès de Na^+ inhibe donc l'absorption du K^+ , entraînant l'apparition de symptômes de carence en K^+ . De nombreuses enzymes et voies métaboliques nécessitent le K^+ pour des activités hautement spécifiques en relation avec la croissance et le développement. Ce cation est également nécessaire pour l'osmorégulation et la synthèse des protéines, pour la préservation de la turgescence cellulaire et pour une activité photosynthétique optimale (Ashraf, 2004). Les deux cations K^+ et Ca^{2+} sont nécessaires pour maintenir l'intégrité et le fonctionnement des membranes cellulaires (Munns, 2002). La carence en potassium conduit initialement à la chlorose puis à la nécrose (Gopa and Dube, 2003).

Le maintien de l'acquisition et le transport du calcium sous contrainte saline sont également des déterminants importants de la tolérance à la salinité. Le stress salin diminue le rapport $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$ dans la zone racinaire, ce qui affecte les propriétés de la membrane en raison du déplacement du calcium associé à la membrane par le sodium, conduisant à la dissolution de l'intégrité de la membrane et de la perte de sélectivité. Fourni à l'extérieur, il a été démontré que le calcium améliore les effets néfastes du NaCl sur la compétition avec le sodium, en augmentant le rapport K^+/Na^+ et par ajustement osmotique, grâce à l'amélioration de l'accumulation de solutés organiques compatibles (Girija et al., 2002; Hasegawa et al., 2000).

Le Ca^{2+} joue également un rôle critique dans le réseau de signalisation des cellules végétales. Des signaux extracellulaires de stress peuvent être perçus par les récepteurs membranaires, qui activent une cascade de signalisation importante et complexe, y compris la génération de seconds messagers tel que le Ca^{2+} . Cette augmentation de la concentration en le Ca^{2+} cytosolique amorce la signalisation des voies de tolérance au stress. De plus, les protéines liant le Ca^{2+} fournissent un niveau supplémentaire de régulation de la signalisation du Ca^{2+} , initiant une cascade de phosphorylation / déphosphorylation conduisant à la

régulation de l'expression génique et résultant en l'expression de plusieurs gènes effecteurs sensibles (Mahajan and Tuteja, 2005, Tuteja and Mahajan, 2007).

1.4.1.5 Le dommage oxydatif :

L'exposition des plantes au stress salin peut augmenter la production des ROS comme O_2^- (radical superoxyde), H_2O_2 (peroxyde d'hydrogène), 1O_2 (oxygène singulet), et OH (radical hydroxyle). L'excès des ROS provoque des réactions phytotoxiques, y compris la peroxydation des lipides, la dégradation des protéines et la mutation de l'ADN. Dans les cellules végétales, les ROS sont générés dans le cytosol, les chloroplastes, les mitochondries et l'espace apoplastique (Jacoby et al., 2011, Mittler et al., 2011).

La principale source des ROS dans les plantes est la chaîne de transport d'électrons photosynthétiques des chloroplastes des feuilles. La fermeture stomatique induite par le sel due au déficit hydrique et aux composantes osmotiques du stress salin entraîne une diminution de la concentration de CO_2 dans les chloroplastes entraînant une réduction du cycle de Calvin par la limitation du substrat (Miller et al., 2010). Le NADPH est produit en continu sur les thylakoïdes, mais son oxydation à l'étape régénératrice du cycle de Calvin est bloquée ; dans ces conditions, la chaîne de transport d'électrons photosynthétiques devient sur réduite, et la proportion d' O_2^- à soustraire les électrons de la chaîne devrait augmenter, conduisant à une propagation des ROS, surtout le O_2^- et le H_2O_2 . À son tour, l'accumulation des ROS endommage la protéine D1 et D2 du photosystème II provoquant la photo-inhibition. La photorespiration accentuée par le stress dans les peroxysomes et le dysfonctionnement de la chaîne respiratoire des mitochondries contribuent également à l'accumulation de H_2O_2 (Miller et al., 2010).

Les principales cibles de toxicité du O_2^- sont les amas de ferrédoxine (protéine fer-soufre) de déshydratases et de protéines de transfert d'électrons, tandis que le H_2O_2 peut inactiver les enzymes en oxydant leurs groupes thiol. Les effets toxiques du H_2O_2 sont renforcés par une réaction avec des réducteurs de métaux, plus particulièrement le Fe^{2+} , pour former le radical hydroxyle hautement réactif, capable de réagir avec pratiquement n'importe quelle molécule biologique (Gill and Tuteja, 2010).

Dans une étude phylogénomique, Mittler et al., (2011) ont observé que le lot de base des antioxydants et des enzymes de piégeage était déjà présent dans les précurseurs algaux des plantes supérieures, tandis que l'activité apoptotique de la NADPH oxydase est un nouveau venu dans le règne végétal des plantes vasculaires. Ces résultats suggèrent que les

eucaryotes photosynthétiques ont d'abord appris à détoxifier les ROS et seulement plus tard à les utiliser comme molécules de signalisation.

1.4.2 Les mécanismes de la tolérance au stress salin :

Comme indiqué, le stress salin affecte la physiologie de la plante durant tous les stades de sa croissance. La tolérance au sel à ces diverses conditions de développement varie considérablement d'une espèce à l'autre. Les plantes qui peuvent survivre et se reproduire à de fortes concentrations de sel dans la rhizosphère sont appelées halophytes. Selon leur capacité de tolérance au sel, les halophytes sont soit obligatoires, soit facultatives, ces dernières présentant des ressources physiologiques plus larges qui leur permettent de prospérer dans les solutions salines et non salines. Les espèces sensibles au sel sont appelées glycophytes. Presque toutes les cultures sont des glycophytes (Ashraf, 2004).

1.4.2.1 Exclusion ionique :

À l'exception de quelques bactéries halophytes, il n'y a pas d'enzymes ou de métabolismes intrinsèques. La tolérance est obtenue en gardant le sel hors de la cellule ou dans la vacuole et en luttant contre les conséquences néfastes de la situation de stress. Chez les halophytes, ces mécanismes sont plus efficaces que chez les glycophytes. Par exemple, Jones and Gorham, (2002) ont signalé que la tolérance au sel plus élevée chez les graminées *Agropyron junceum* vis-à-vis d'*Agropyron intermedium* était liée à une exclusion plus efficace du Na^+ et du Cl^- . Dans une autre étude, Carden et al., (2003) ont découvert qu'une variété d'orge tolérante au sel maintenait un taux de Na^+ cytosolique dix fois moins élevé dans les cellules corticales des racines qu'une variété plus sensible. Il est bien établi que la plupart des dommages subis par les plantes exposées au sel résultent de l'accumulation du Na^+ dans les pousses, inhibant les processus métaboliques clés telles que la synthèse des protéines et la photosynthèse (Munns, 2005). Ainsi, chez la plupart des halophytes, la rétention du Na^+ dans la racine est une tendance générale et donc une composante importante de la tolérance au sel (Ashraf, 2004).

1.4.2.2 Les Défenses antioxydantes :

Les plantes développent des systèmes très élaborés de défense pour se protéger contre le stress oxydatif et survivre. Ainsi, les cellules possèdent des molécules anti-oxydantes et des enzymes anti-oxydatives pour faire face aux cascades de réactions déclenchées par le stress oxydatif dans les organes cellulaires. Parmi ces enzymes anti-oxydatives, les plus importantes et les plus étudiées sont : la superoxyde dismutase (SOD), l'ascorbate peroxydase (APX), la

catalase (CAT), et la glutathion peroxydase. Quant aux molécules anti-oxydantes les plus étudiées sont : les composés phénoliques, l'ascorbate, le glutathion, et les tocophérols (Roy et al., 2014)

1.4.2.3 Les composés anti-oxydatants :

Pour contrer le stress oxydatif induit par la salinité, les plantes ont développé différentes stratégies parmi lesquelles la stimulation de la synthèse des métabolites secondaires peut être impliquée dans des rôles de protection cellulaire tels que le piégeage des ROS. Les antioxydants naturels sont produits dans tous les organes de la plante, et les composés typiques avec des activités anti-oxydantes élevées comprennent les polyphénols, les caroténoïdes et les vitamines (Chanwitheesuk et al., 2005).

Il est bien établi que l'accumulation de métabolites secondaires dépend fortement des conditions de croissance, telles que la température, le régime de lumière, l'apport de nutriments, etc. (Ballhorn et al., 2011). En outre, des influences environnementales plus graves, telles que les conditions de stress, auront également un impact sur les voies métaboliques responsables de l'accumulation de métabolites secondaires. La synthèse améliorée de métabolites secondaires particuliers dans des conditions stressantes est également censée protéger les structures cellulaires contre les effets oxydatifs (Jaleel et al., 2007). Parmi ces composés, les polyphénols principalement les flavonoïdes jouent un rôle important dans la défense contre les ROS, leur synthèse et leur accumulation ont été proposées comme stimulées chez les plantes soumises à un stress salin (Navarro et al., 2006).

1.4.2.4 Le mécanisme de détoxification :

Dans l'halophyte, *Prosopis strombulifera* légumineuse originaire d'Argentine, les traitements au sel ont augmenté l'accumulation de plusieurs polyphénols dans les feuilles et les racines. Le traitement au Na_2SO_4 a fortement induit une accumulation de flavonoïdes et de flavan-3-ols. Les plantes traitées avec une solution bisaline ($\text{Na}_2\text{SO}_4 + \text{K}_2\text{SO}_4$ et $\text{NaCl} + \text{KCl}$) ont également accumulé des niveaux élevés de polyphénols. L'analyse HPLC dans ces plantes a montré des niveaux élevés de rutine, de catéchine, d'épicatéchine et de proanthocyanidine. L'augmentation des flavonoïdes totaux et des flavan-3-ols lorsque l'anion SO_4^{-2} est présent dans la solution de croissance peut indiquer le rôle de ces composés dans la neutralisation des dommages oxydatifs importants induits par un stress salin sévère (Reginato et al., 2014). Lorsque d'autres systèmes ROS détoxifiants tels que le cycle de xanthophylle ne sont pas suffisamment efficaces, comme cela pourrait être le cas des plantes traitées au Na_2SO_4 , la

production des polyphénols est augmentée en tant que système de détoxification alternatif. Agati et al., (2012) ont rapporté que les flavonoïdes, à une gamme micromolaire, peuvent efficacement éviter la génération des formes réactives d'oxygène (par exemple en chélatant des ions de métaux de transition).

1.4.2.5 La synthèse des polyphénols :

Néanmoins, malgré leurs fonctions protectrices, l'augmentation induite par le stress des métabolites secondaires a souvent été compensée par une diminution correspondante de la biomasse chez plusieurs espèces (Selmar and Kleinwächter, 2013). En conséquence, chez *P. strombulifera*, la forte augmentation des polyphénols totaux trouvés dans les plantes traitées avec l' Na_2SO_4 s'est accompagnée d'une forte inhibition de la croissance, en revanche, chez les plantes traitées au NaCl , les polyphénols n'augmentaient pas autant et la croissance n'était pas affectée, avec des plantes saines sans symptômes de toxicité. On pourrait penser qu'avec le traitement salin, des mécanismes de dissipation d'énergie sont plus efficaces tels que le cycle des xanthophylles ou la désoxydation des radicaux oxygène par la SOD rendraient inutile l'investissement des ressources dans la synthèse des flavonoïdes (Reginato et al., 2014). On peut voir sur le schéma 2, la représentation des voies de biosynthèse des polyphénols.

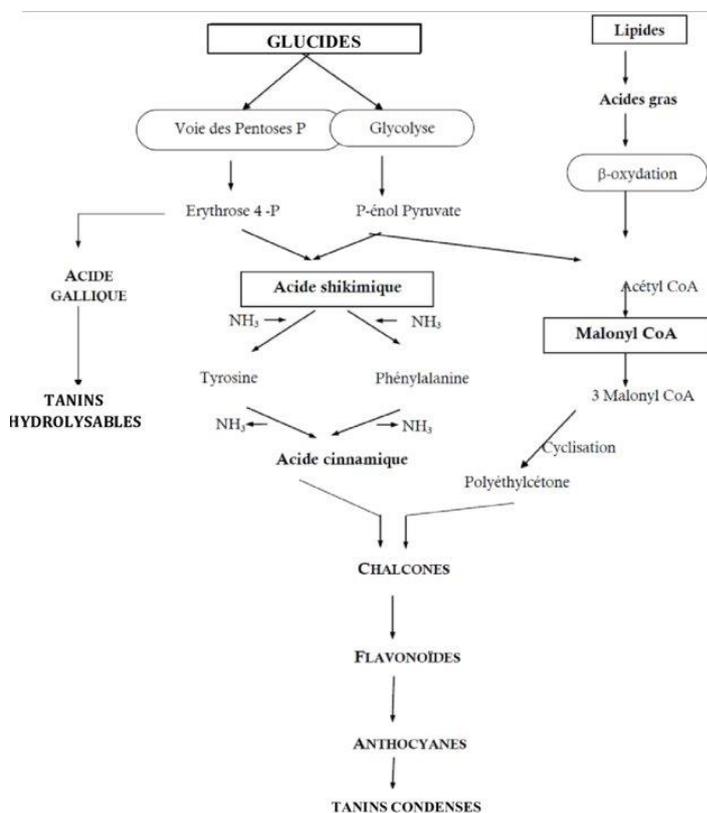


Schéma 2 : la représentation des voies de biosynthèse des polyphénols.

2. Les légumineuses :

2.1 Classification de la sous-famille des Faboideae :

Les légumineuses (Fabacées) sont une grande famille très diversifiée du règne végétal qui comprend des plantes herbacées annuelles, des arbustes et des arbres pérennes. Ces plantes sont des composantes essentielles dans les écosystèmes terrestres dus à leur capacité à fixer l'azote atmosphérique dans les nodules symbiotiques, et par conséquent elles sont d'excellents colonisateurs des environnements pauvres en azote (Figure 1) (Zhu et al., 2005).

Ce n'est qu'au cours des 20 dernières années qu'ont été établies des bases solides et universelles pour la taxonomie du genre « *Phaseolus* », ce genre a été bien différencié d'autres comme le « *Vigna* » et le « *Macroptilium* », avec lesquels il existait des confusions de classification. Du point de vue taxonomique l'espèce *Phaseolus vulgaris* L. est le prototype du genre, elle a été identifiée par Linné en 1753. Elle appartient à la tribu des Phaseoleae, de la sous-famille des Papilionoideae, dans l'ordre des Rosales (Figure 2). La section *Phaseolus* du genre *Phaseolus* est la plus importante et regroupe notamment les cinq espèces cultivées : *P. acutifolius* A. Gray., *P. coccineus* L., *P. lunatus* L., *P. polyanthus* Greenm. et *P. vulgaris* L. (Gepts et al., 2008).

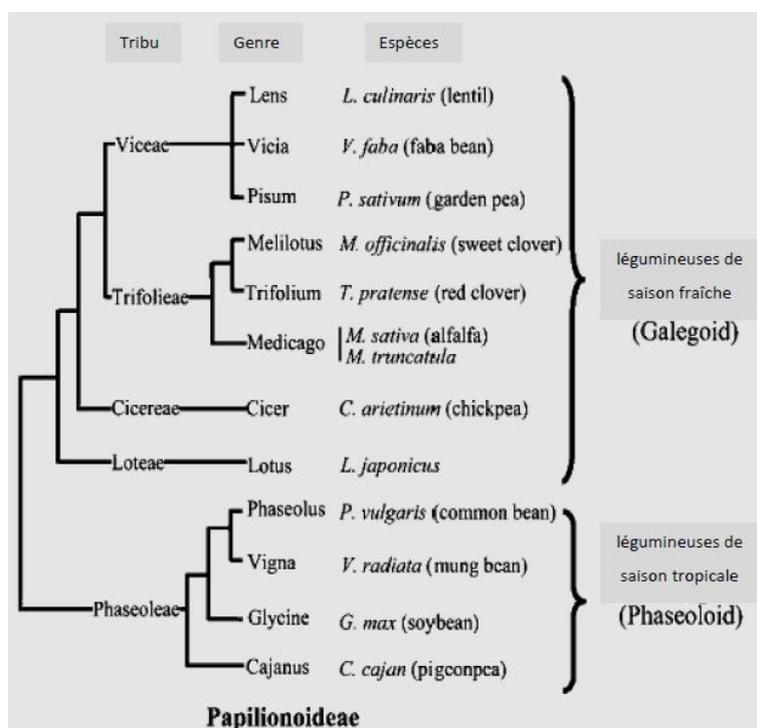


Figure 1 : Classification de la sous-famille des Faboideae (Zhu et al., 2005)

2.2 Le Haricot (*Phaseolus vulgaris* L.) :

2.2.1 Description morphologique et botanique du haricot :

Le haricot est une plante herbacée, annuelle, originaire d'Amérique centrale et d'Amérique du Sud (Andes) (Figure 3), et elle peut prendre plusieurs types de port selon les variétés : les haricots grimpants ou à rames, au port volubile, qui sont proches du type original, et les haricots nains à port érigé et plus ramifié. Le port de la plante est principalement déterminé par son expression génétique, mais les conditions écologiques aux différents stades phénologiques peuvent l'influencer. Ainsi, une température chaude (+30 °C) au stade de la première feuille trifoliolée déclenche toujours le port volubile. On peut également obtenir des plantes à port intermédiaire. (Ndèye, 2002).

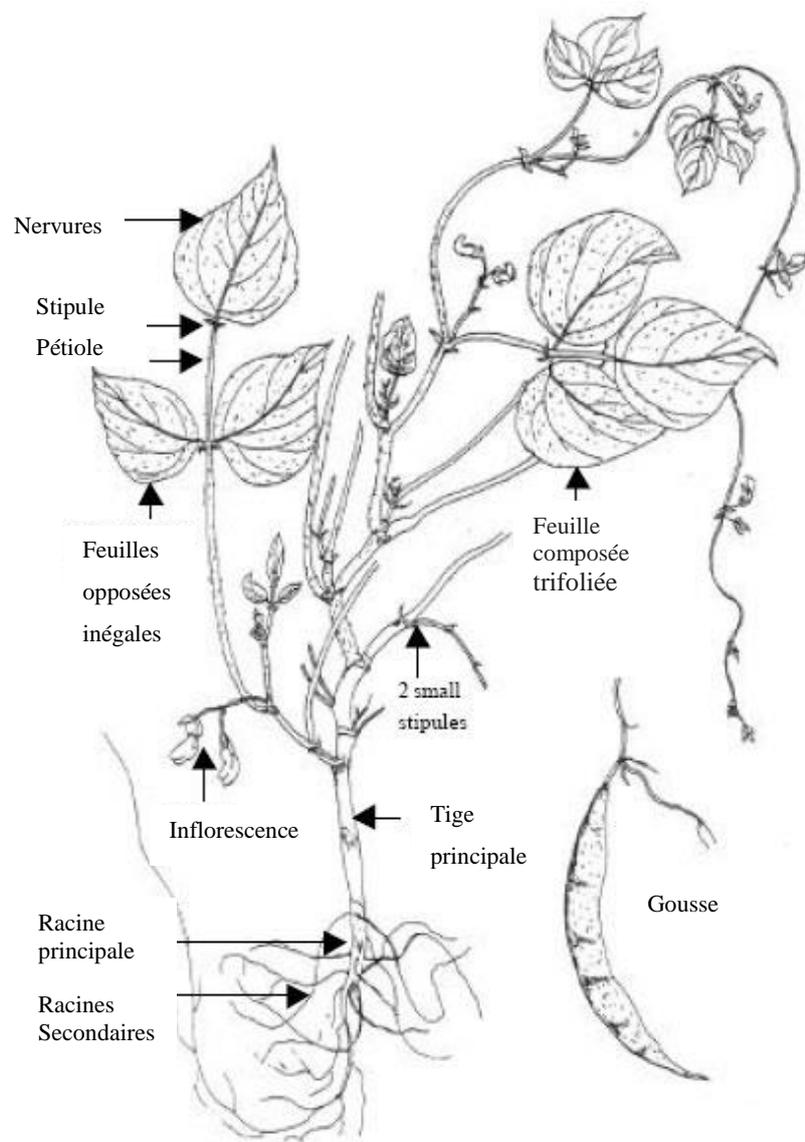


Schéma 3 : Représentation schématique de *Phaseolus vulgaris* L. plante, âgée de 8 semaines, montrant les structures végétative et reproductrice (Rania et al., 2010).

À l'issue de la germination épigée, deux feuilles opposées simples puis des feuilles composées trifoliées à folioles cordiformes de 6 à 15 cm de long sur 3 à 11 cm de large se forment sur une tige angulaire (Ndèye, 2002).

Les fleurs sont portées en grappes axillaires et terminales. Elles sont zygomorphes composées de deux pétales en carène, deux pétales latéraux ailés et un pétale standard disposé extérieurement (Ndèye, 2002). La couleur de la fleur est généralement indépendante de celle des graines, mais l'association entre fleurs particulières et couleur des graines est connue. Ces fleurs peuvent être blanches, roses ou violettes (souvent rouges chez *P. coccineu*). La fleur contient dix étamines sont dites diadelphes, c'est-à-dire organisées en deux groupes : neuf d'entre elles sont soudées par le filet, la dixième étant libre, et un sac ovarien multiple. Dans la plupart des cas, la fleur réalise une autofécondation et développe un fruit ou gousse droite ou légèrement courbée. Les graines sont riches en protéines (22 %) et en glucides (56 % des graines) (Broughton, 2003). Elles sont rondes, elliptiques légèrement aplaties ou arrondies (Ndèye, 2002).

2.2.2 Distribution de *P. vulgaris* L. sauvage en Amérique latine :

Les centres d'origine du haricot sont présentés dans la figure 2 ; (A) Il est possible de distinguer quatre centres de diversité : l'Andine, le Colombien, l'Équatorien / nord du Pérou et le Méso-Américain. En outre, d'importants centres secondaires de diversité existent en Afrique, au Brésil, en Europe, au Moyen-Orient, ainsi qu'en Amérique du Nord.

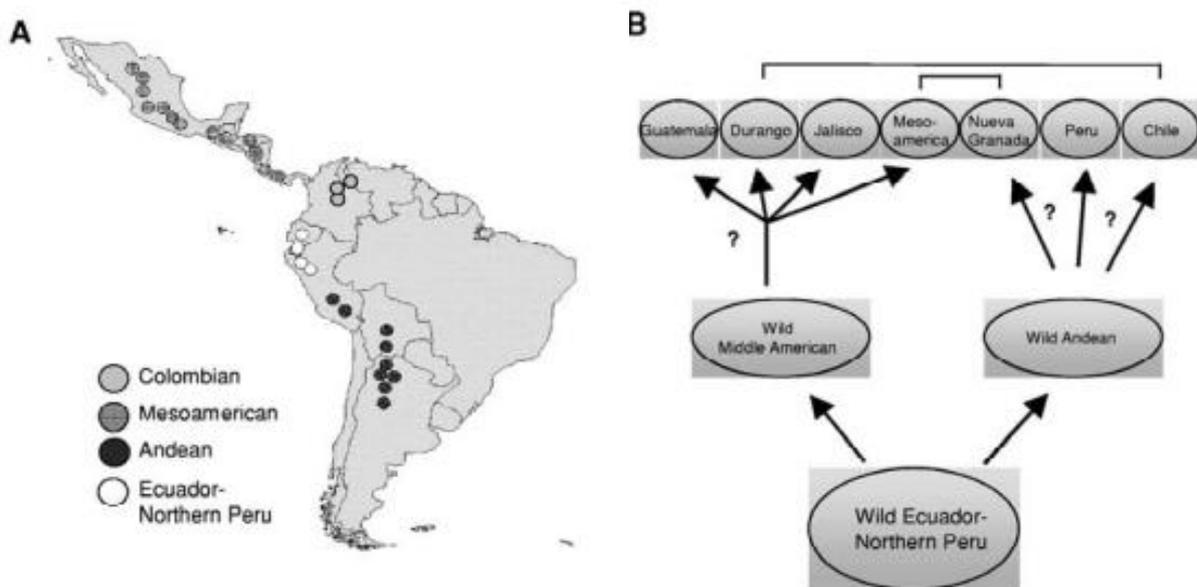


Figure 2 : A-Distribution de *P. vulgaris* L. ; B-Centre d'origine et diversification. (Beebe et al., 2000)

(B) La domestication des pools génétiques des Andes et des Amérindiens moyens conduit à quatre races dans le Moyen-Amériques et à trois races parmi le pool de gènes andins. L'introgession entre les génotypes représentant les différentes races est montrée (adapté de Beebe et al. (2000)).

2.2.3 Classes commerciales du haricot :

Deux classes commerciales majeures du haricot sont cultivées : les haricots verts et les haricots secs. Les cultivars de haricot vert possèdent un mésocarpe épais et succulent avec peu ou pas de fibres dans le péricarpe, elles sont consommées comme légumes frais. Ces cultivars sont souvent classés sur la base de la forme, la couleur et la taille des gousses et présentent une large variabilité liée à leurs caractères d'adaptation (FAO, 2009).

De même, une variabilité importante des caractères phénotypiques, du calibre, de la forme et de la couleur des graines a été observée chez les cultivars du haricot sec. La majeure partie de la production et de la consommation du haricot, à l'échelle mondiale, est représentée par les haricots secs (FAO, 2009).

2.2.4 La culture du haricot commun et des légumineuses en Algérie :

La culture des légumineuses en Algérie reste marginale, en effet la superficie actuelle affectée aux légumineuses est de 85.000 ha et ne permet de produire qu'environ un (1) million quintaux (qx) de légumes secs toutes espèces confondues (fèves, pois, haricots, pois chiches et lentilles), soit 35% des besoins du pays. La superficie totale cultivée concerne 3.565 hectares consacrée à la fève, 862 ha pour les lentilles, 20 ha pour les petits pois, et de 1.430 ha pour les pois chiches (Belaid, 2018). En 2014 la superficie consacrée aux haricots secs était de 1.633 ha produisant 13 429 qx alors qu'elle était de 11 456 ha pour les haricots verts avec une production de 795 695 qx (Direction des Statistiques Agricoles et des Systèmes d'Information, 2014). Actuellement, le pays importe de grandes quantités de pois chiches et de lentilles auxquels s'ajoutent les haricots secs lesquels sont importés pour plus de 80 millions de dollars annuellement (Belaid, 2018).

2.2.5 La nutrition azotée chez le haricot :

La nutrition azotée du haricot est assurée de deux façons comme pour la plupart des légumineuses : par assimilation des nitrates du sol par la nitrate-réductase de la plante soit par fixation biologique d'azote atmosphérique : la nitrogénase de la bactérie. Ces deux processus sont complémentaires au cours du cycle de croissance de la plante. La nitrate-réductase intervient essentiellement avant la floraison et la nitrogénase prend la relève de deux à trois

semaine après celle-ci suivant les variétés (Franco et al., 1979) et se poursuit jusqu'au début de la formation des gousses. Une deuxième période d'activité maximale de la nitrate-réductase peut apparaître après la formation des gousses et les deux processus peuvent être complémentaires. L'activité nitrogénasique suit une courbe de croissance exponentielle elle est maximale pendant la période de floraison et diminue pendant le remplissage des gousses. Obaton et al., (1982) ont démontré qu'au champ c'est essentiellement l'assimilation du nitrate présent dans le sol qui prédomine au début du cycle tandis que la fixation d'azote atmosphérique intervient au dernier stade.

2.2.6 Les antioxydants naturels dans le haricot :

De nombreuses études ont révélé une forte concentration d'antioxydants dans différentes variétés de haricot commun. Les antioxydants dans le haricot commun sont principalement concentrés dans les téguments. Les teneurs en composés phénoliques totaux de l'enveloppe, des graines entières et décortiquées ont été calculées, et se situaient entre 0,6 et 78,2 mg d'équivalent catéchine par gramme d'échantillon (Cardador-Martínez et al., 2002). Les enveloppes des graines du haricot semblaient avoir une teneur en composés phénoliques et une activité anti-oxydante beaucoup plus élevées par rapport au haricot entier correspondant. Par exemple, l'enveloppe séparée manuellement contenait 37 fois plus de phénol que la farine du haricot entier et le haricot décortiqué (Oomah et al., 2010 ; Cardador-Martínez et al., 2002).

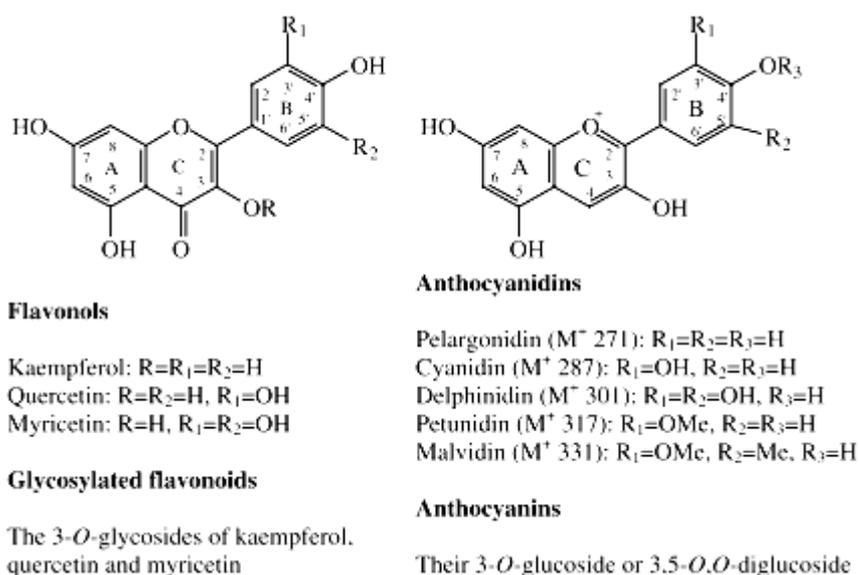


Figure 3 : Structure des flavonols et des anthocyanes (Oomah et al., 2010 ; Cardador-Martínez et al., 2002)

La plupart des antioxydants du haricot commun sont des composés phénoliques, notamment la quercétine, le kaempférol, les flavonols, la daidzéine, les anthocyanes et les tanins (Akond et al., 2011). La teneur en quercétine et en kaempférol dans le haricot entier varie respectivement de 6,9 à 23,5 $\mu\text{g} / \text{g}$ et de 13,8 à 204 $\mu\text{g} / \text{g}$ de haricot (Diaz-Batalla et al., 2006). Quatre acides phénoliques ont également été détectés dans le haricot commun, notamment l'acide p-hydroxybenzoïque, l'acide vanillique, l'acide p-carmarrique et l'acide férulique, l'acide férulique étant prédominant, allant de 17 à 36 $\mu\text{g} / \text{g}$ de haricot. La teneur en anthocyanes et en polyphénols varie selon les différents génotypes de haricot commun, ce qui correspond aux divers degrés d'activité antioxydante (Akond et al., 2011), (Figure 3).

2.2.7 Les effets des antioxydants sur la santé :

Les molécules bioactives entraînent une variété d'effets bénéfiques sur la santé. Les tanins, que l'on trouve principalement dans les haricots de couleur rouge, sont des composés polyphénoliques ayant diverses activités bioactives telles que les fonctions anti-inflammatoires, antiprolifératives et antimicrobiennes. Ils sont reconnus comme des antioxydants ayant une capacité de piégeage des radicaux libres, une activité de chélation des métaux et une capacité à inhiber la peroxydation des lipides et les enzymes pro-oxydantes (Koleckar et al., 2008). Les anthocyanes, une autre classe d'antioxydants trouvée dans les haricots, sont des pigments qui non seulement colorent les haricots, mais possèdent également des propriétés anti-oxydantes qui ont des effets bénéfiques pour la santé telles que les fonctions anti-cancérigènes et anti-inflammatoires et la prévention des maladies cardiovasculaires (He and Giusti, 2010). Les flavonols présents dans les haricots ont démontré un effet antioxydant ainsi qu'un effet de protection contre les maladies chroniques comme les maladies vasculaires et certains cancers (Nothlings et al., 2007).

3. La variabilité génétique des plantes :

3.1 Sources de diversité génétique :

Une nouvelle diversité est ajoutée aux populations par la mutation (l'origine de toute la diversité génétique) et la migration des gènes d'autres populations. De nouvelles combinaisons d'allèles sont formées par recombinaison. Les mutations ajoutent très lentement la diversité génétique aux populations et se propagent généralement lentement à travers la population et vers d'autres populations. Le taux de propagation est influencé par le taux de reproduction, la nature de la dispersion des graines et du pollen, et si la mutation est affectée par la sélection (par exemple, si elle a ou non une valeur adaptative). Dans tous les cas, il faut plusieurs générations pour avoir une fréquence appréciable de la mutation, ce qui se traduit

par des périodes extrêmement longues, en effet les temps de régénération sont très longs. Étant donné les temps potentiellement longs pour introduire des niveaux significatifs de nouvelle diversité génétique, toutes les influences qui augmentent le taux de pertes autrement naturelles de diversité génétique (par exemple, par sélection naturelle) peuvent provoquer une perte nette de diversité génétique (Ahuja and Jain, 2015).

3.1.1 Les mutations :

Les mutations peuvent avoir des effets positifs, neutres ou délétères pour les individus et les populations. Les mutations bénéfiques sont celles qui, d'une manière ou d'une autre, améliorent la survie ou la capacité de reproduction. Les espèces végétales qui sont en grande partie consanguines présentent également des allèles délétères, généralement de faible niveau. La somme des effets de réduction de la morphologie de ces mutations délétères est appelée charge génétique ou de mutation. Ainsi, même dans les conditions naturelles, il existe une diversité génétique indésirable ou non bénéfique pour l'espèce (Crow, 1993).

3.1.2 La manipulation de la diversité génétique :

Bien que la source ultime de la diversité génétique soit la mutation, une nouvelle diversité génétique peut être introduite dans une population par des moyens naturels tels que la dispersion des graines et la pollinisation ou par des introductions artificielles telle que la transplantation. Le premier se produit habituellement lentement et les nouveaux allèles seraient normalement en basse fréquence, au moins initialement. Ce dernier peut se produire rapidement et peut changer radicalement la composition génétique. Selon le contexte la diversité génétique introduite dans les populations des plantes peut être bénéfique ou préjudiciable. Certains facteurs déterminants sont : la quantité de la diversité génétique restante dans la population résidente, les différences génétiques entre les plantes résidentes et introduites, et le système de reproduction des deux populations (Ahuja and Jain, 2015).

3.2 La diversité génétique en agriculture :

La diversité génétique dans les cultures agricoles peut être subdivisée en deux catégories :

- La diversité planifiée : c'est la diversité génétique parmi les espèces des plantes cultivées (Vandermeer et al., 1998). Ces ressources sont à la base de la production agricole.
- La diversité associée : c'est la diversité entre les espèces végétales présente dans les écosystèmes agricoles (Biala et al., 2005).

Par conséquent, les prairies et les pâturages, occupent une position intermédiaire. Ils sont bien exploités, au sens agricole du terme, mais leur diversité génétique n'est influencée par les agriculteurs qu'au début de l'exploitation. Par la suite, cette diversité est influencée de façon prépondérante par l'environnement (exemple de stress biotique et abiotique) et par ce mode d'exploitation. Une forte intensité d'exploitation peut exercer des effets négatifs sur la diversité génétique. La diversité génétique, la variété des gènes et des allèles à l'intérieur d'une espèce, définissent l'élément de base de la biodiversité. C'est une condition essentielle pour la productivité et la durabilité des systèmes de production agricole (Peter-Schmid et al., 2008).

3.3 La diversité génétique chez le haricot :

3.3.1 Les pools génétiques mésoaméricains et andins en Afrique :

En Afrique, les pools géniques Mésoaméricains et Andins sont à peu près égaux en fréquence (Blair et al., 2010). Cependant, il existe des différences frappantes entre différents pays au Kenya (Asfaw et al., 2009), l'Afrique de l'est et l'Afrique australe (Gepts and Bliss, 1988), le type Andin est le plus fréquent, tandis qu'en Éthiopie (Asfaw et al., 2009) et en Afrique centrale (Blair et al., 2010), le type Mésoaméricain prédomine. Fait intéressant, l'étude d'Asfaw et al., (2009) ont révélé qu'à quelques exceptions près, le regroupement des accessions était basé sur le pays d'origine (Kenya ou Éthiopie), avec des séquences flanquantes globales entre les pays de 0,06 ($P < 0,001$). En particulier, la divergence est beaucoup plus grande pour les génotypes Andins que pour le Mésoaméricain (séquences flanquantes = 0,34 et 0,04 respectivement, $P < 0,001$). Cela suggère qu'il existe au Kenya et en Éthiopie des réseaux semenciers (et peut-être sociaux) au moins partiellement indépendants, sans fort échange transnational des semences de ces haricots. Une autre raison de la divergence entre le germoplasme kényan et éthiopien pourrait provenir de différents agriculteurs, les préférences de sélection, selon l'adaptation écologique, la valeur culinaire et l'orientation du marché (Asfaw et al., 2009). La prédominance des types Mésoaméricains en Afrique centrale a été attribuée à plusieurs raisons: l'augmentation récente de la pourriture des racines, à laquelle les haricots Andins sont moins résistants (en particulier les types déterminés); le rendement plus élevé par plante qui peut souvent être obtenu à partir des génotypes Mésoaméricains; et l'apport de matériel génétique provenant de programmes nationaux (Blair et al., 2010).

3.3.2 La variabilité génétique du haricot :

La variabilité génétique des variétés de haricot commun cultivé est considérée comme plus faible que celle des variétés sauvages en raison d'un goulot d'étranglement génétique et

d'un effet fondateur lors de la domestication des cultures, ce qui réduit les possibilités de gains génétiques sur les programmes de sélection (Gepts, 1988) ; puisque les progénitures sauvages sont la base des cultivars modernes, l'élucidation et la compréhension de la structure de la diversité génétique dans le pool génétique du haricot sont essentielles pour élargir la base génétique des cultivars afin de soutenir les programmes de sélection (Singh, 2001). Les études sur les processus de domestication et d'organisation de la variabilité génétique du haricot commun ont d'abord été basées sur des traits morphologiques et des marqueurs biochimiques.

À la fin des années 1980, suite à la création de la méthode PCR, un certain nombre de technologies de marqueurs moléculaires ont été développées. Dans les années 1990, avec les progrès émergents des techniques de l'ADN, associés à la réduction des coûts et à une plus grande accessibilité aux approches moléculaires, le nombre de marqueurs moléculaires disponibles est devenu illimité, rendant possible l'étude des différents aspects de la structure génétique des cultures et la construction de cartes génétiques plus informatives et représentatives. La caractérisation de la diversité génétique des accessions de haricot communs à partir de pools génétiques divergents à l'aide des marqueurs moléculaires a permis de déterminer les mécanismes d'origine et d'évolution, d'étudier les effets des processus de domestication sur la réduction de la diversité génétique et permettre une gestion et une exploitation efficace du germoplasme. Sur la base de diverses classes de marqueurs moléculaires, qui explorent la variation génomique, des études de la structure génétique entre et au sein de pools génétiques d'une collection de *P. vulgaris* sauvages ont montré que les accessions sauvages de *P. vulgaris* se regroupent clairement en Andins, Mésoaméricains et intermédiaires pools génétiques (Freyre et al., 1996). Plusieurs études ont montré la diversité de *P. vulgaris* et la région d'origine la plus probable de son pool génétique (Kwak et al., 2009, Blair et al., 2010), le niveau de diversité génétique et l'origine des haricots cultivés et sauvages Andins, le niveau et la direction du flux génétique entre les populations de haricot sauvages et domestiqués et l'analyse de la variabilité qui a permis de conclure aux niveaux élevés de variabilité des échantillons sauvages regroupés en fonction de leur distribution géographique et les variétés locales en fonction de leurs descripteurs morpho-botaniques (Papa et al., 2005).

3.4 Les approches de la diversité moléculaire :

3.4.1 Les marqueurs moléculaires pour l'étude de la diversité génétique :

La valeur phénotypique d'un individu dépend du génotype mais aussi des conditions environnementales dans lesquelles se trouve ce dernier. La génétique quantitative a permis de

modéliser la transmission génétique des caractères ayant une distribution quantitative. L'utilisation des marqueurs moléculaires liés aux facteurs génétiques contrôlant l'expression des caractères d'intérêt (résistance aux maladies, aux contraintes environnementales), et le développement des cartes génétiques à très haute densité permettent d'accéder à plusieurs informations : le nombre et l'effet des gènes intervenant dans l'expression d'un caractère, leur localisation sur les chromosomes et leur mode d'action. Un marqueur moléculaire est un locus génétique qui renseigne sur le génotype de l'individu ou sur le génotype des locus voisins. Il existe plusieurs types de marqueurs, que l'on peut classer en fonction du polymorphisme qu'ils détectent à savoir les marqueurs morphologiques, les marqueurs biochimiques et les marqueurs moléculaires (Blair et al., 2006)

Acosta-Gallegos et al., (2007) ont décrit l'utilisation de la diversité génétique du germoplasme sauvage des haricots communs dans les programmes de pré-sélection comme un moyen précieux de récupérer la perte de diversité à travers la recherche d'allèles potentiellement favorables chez les ancêtres sauvages, en vue du développement de nouveaux cultivars présentant une plus grande diversité génétique et plus de résistance aux stress biotiques et abiotiques ; cette diversité génétique sera quantifiée notamment grâce aux marqueurs moléculaires.

3.4.2 La cartographie génétique (genetic linkage map) de *P. vulgaris* :

Des cartes de liaison (genetic linkage map) importantes ont été développées, ce qui a permis des avancées significatives dans la connaissance de la structure et de l'organisation du génome de *P. vulgaris*. La première carte génétique des haricots communs, qui intégrait une classe diversifiée de marqueurs moléculaires, a été nommée «Florida map» et était basée sur le polymorphisme de longueur des fragments de restriction (RFLP), l'isozyme et les marqueurs polymorphes amplifiés. (Vallejos et al., 1992). Plus tard, Nodari et al. (1993a, b) ont développé des cartes de liaisons dérivées du croisement entre la lignée BAT93 et le cultivar Jalo EEP558, désignées comme population «BJ», englobant un grand nombre de marqueurs RFLP et RAPD.

Dans une étude suivante, Adam-Blondon et al., (1994) ont construit la "Paris map", également basée sur les marqueurs RFLP et RAPD. Afin d'aligner ces cartes, une carte de liaison de base a été établie dans la population BJ consanguine recombinante avec une longueur totale de 1226 cM et elle comprenait un grand nombre de marqueurs (Freyre et al., 1998), suivi de l'assignation du premier ensemble des marqueurs microsatellites co-dominants dans une carte de liaison moléculaire de *P. vulgaris* (Yu et al., 2000).

3.4.3 La cartographie de liaison par les microsatellites et les SNPs :

Un nouvel ensemble important de marqueurs microsatellites a commencé à être intégré dans les cartes de liaison des haricots communs (Blair et al., 2003, 2006a), ce qui a abouti à une carte basée exclusivement sur les marqueurs microsatellites cartographiés dans la population BJ. La correspondance entre les groupes de liaison et les chromosomes a été établie et adaptée par Grisi et al., (2007). Récemment, une nouvelle version élargie de la carte de liaison centrale utilisant également la population BJ a été publiée, qui comprenait des marqueurs avec une fonction génétique putative (Hanai et al., 2009). Actuellement, des marqueurs génétiques à base de polymorphisme du nucléotide simple (SNP) sont utilisés pour créer des cartes de liaison génétique denses. De plus, les SNPs peuvent fournir des marqueurs génétiques pour identifier les gènes candidats associés aux loci des caractères quantitatifs (QTL). Le premier rapport de cartographie SNP chez *P. vulgaris* a été décrit par Galeano et al., (2009), qui a placé un total de 118 nouveaux locus marqueurs dans une carte moléculaire intégrée.

3.5 Les microsatellites :

Les microsatellites (1 à 10 nucléotides) et les minisatellites (> 10 nucléotides) sont des sous-catégories de répétitions en tandem (TR) qui, ensemble avec les répétitions intercalées prédominantes (ou restes d'éléments transposables), constituent des régions génomiques répétitives. Les TRs sont évolutifs en raison de leur instabilité. Ils muent à des vitesses comprises entre 10^3 et 10^6 par génération de cellules, c'est-à-dire jusqu'à 10 ordres de grandeur supérieurs aux mutations ponctuelles (Gemayel et al., 2012).

Les microsatellites, répétitions de séquences simples (SSRs), répétitions en tandem courtes (STRs) et polymorphismes de longueur de séquence simple (SSLP) sont trouvés chez les procaryotes et les eucaryotes. Ils sont largement répartis dans tout le génome, en particulier dans l'euchromatine des eucaryotes, et dans l'ADN nucléaire et organellaire codant et non codant (Pérez-Jiménez et al., 2013; Phumichai et al., 2015).

3.5.1 Les applications des microsatellites :

Les SSRs ont été les marqueurs les plus largement utilisés dans les génotypes au cours des vingt dernières années, car ils sont hautement informatifs, co-dominants, marqueurs génétiques multi-allèles reproductibles expérimentalement et transférables entre espèces apparentées (Mason, 2015). En particulier, les SSRs sont utiles pour les espèces sauvages (1) dans les études de diversité mesurées sur la base de la distance génétique; (2) estimer le flux de gènes et les taux de croisement; et (3) dans les études évolutives, surtout pour déduire les

relations génétiques infraspécifiques. D'un autre côté, pour les plantes cultivées, les SSRs sont couramment utilisés pour (1) construire des cartes de liaison; (2) cartographie des locus impliqués dans les caractères quantitatifs (QTL); (3) estimer le degré de parenté entre les génotypes en utilisant une sélection assistée par marqueur; et (4) la définition des empreintes génétiques des cultivars (Kalia et al., 2011).

Les SSRs ont été particulièrement utiles pour générer des cartes intégrées des espèces végétales dans lesquelles les familles biparentales sont utilisées pour construire des cartes de liaison (Souza et al., 2013; Pereira et al., 2013); des cartes génétiques, physiques et basées sur des séquences, fournissant aux sélectionneurs et aux généticiens un outil pour lier les variations phénotypiques et génotypiques (Hayward et al., 2015).

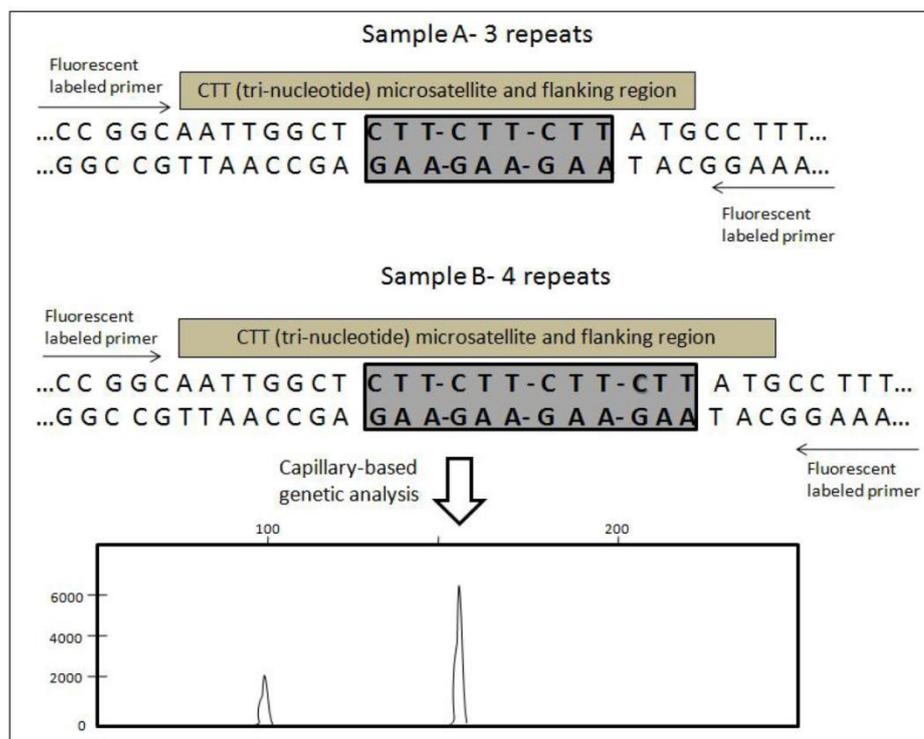


Figure 4 : Représentation d'un microsatellite et d'une région flanquante CTT (tri-nucléotide) et méthode de détection. Les flèches indiquent les positions des amorces de PCR. Deux variantes de longueur sont montrées (A et B) (Souza et al., 2013; Pereira et al., 2013).

Ces marqueurs sont extrêmement utiles dans les études de la structure de la population, de la cartographie génétique et des processus évolutifs. Les SSRs avec des répétitions de nucléotides de 3 à 5 nucléotides de long sont préférés dans l'analyse médico-légale et parentale. Il convient de noter qu'un certain nombre d'algorithmes de recherche SSRs ont été développés, y compris TRF (Tandem Repeats Finder) (Benson, 1999), SSRIT

(Temnykh et al., 2001), MISA (Thiel et al., 2003), SSRFinder (Gao et al., 2013), TROLL (Castelo et al., 2002) et SciRoKo (Kofler et al., 2007).

3.6 Le polymorphisme d'un seul nucléotide (SNP, *single-nucleotide polymorphism*) :

Le polymorphisme mononucléotidique est une variation de la séquence d'ADN qui se produit lorsqu'un seul nucléotide (A, T, G ou C) diffère parmi les membres d'une espèce. Le SNP est le système de marqueur le plus abondant à la fois dans le génome des animaux et des végétaux et a récemment émergé comme marqueurs moléculaires de nouvelle génération pour diverses applications. Étant binaires ou co-dominants, ils sont capables de discriminer efficacement les allèles homozygotes et hétérozygotes (Foster et al., 2010).

3.6.1 Intérêts des SNPs :

Contrairement aux microsatellites, leur puissance ne provient pas du nombre d'allèles mais du grand nombre de locus pouvant être évalués (Foster et al., 2010). Une fois que les rares SNPs sont découverts dans une espèce à faible diversité, le pouvoir de discrimination de la population génétique peut être équivalent au même nombre de locus dans une espèce génétiquement diverse. La nature plus évolutive conservée des SNPs les rend moins sujets au problème de l'homoplasie (Brumfield et al., 2003). Plus important encore, les SNPs se prêtent à une automatisation à haut débit, permettant un génotypage rapide et efficace d'un grand nombre d'échantillons (Tsuchihashi and Dracopoli, 2002).

3.6.2 La Conception des SNPs :

Chez les plantes, les SNPs peuvent être conçus à partir des ESTs (Gómez and Maloo, 2009) et du pyro-séquençage simple brin. Une méthode d'analyse du génome à haut débit appelée diversity array technology (DArT), basée sur la plateforme des puces à ADN, elle a été développée pour l'analyse du polymorphisme de l'ADN végétal. van Eijk et al., (2004a,b) ont décrit une nouvelle technique de génotypage des SNPs, SNPWave. Les réseaux de SNP à base de puce utilisent des milliers de sondes oligonucléotidiques attachées à une surface solide (par exemple du verre, une plaquette de silicium) permettant d'interroger simultanément un grand nombre de SNPs. Le kit ABI PRISM SNaPhot Multiplex est conçu pour interroger jusqu'à dix polymorphismes mononucléotidiques des emplacements connus sur un à dix modèles d'ADN dans un seul tube. Le principe de base des SNPs et du procédé de détection est illustré sur la figure 5. En bref, le protocole comprend la préparation des réactions d'échantillons en utilisant un modèle et une amorce, en réalisant des réactions

SNaPhot par cycle thermique et en conduisant un traitement post-extension des produits. Ensuite, l'électrophorèse automatisée des échantillons et enfin, l'analyse des données (Gómez and Maloo, 2009).

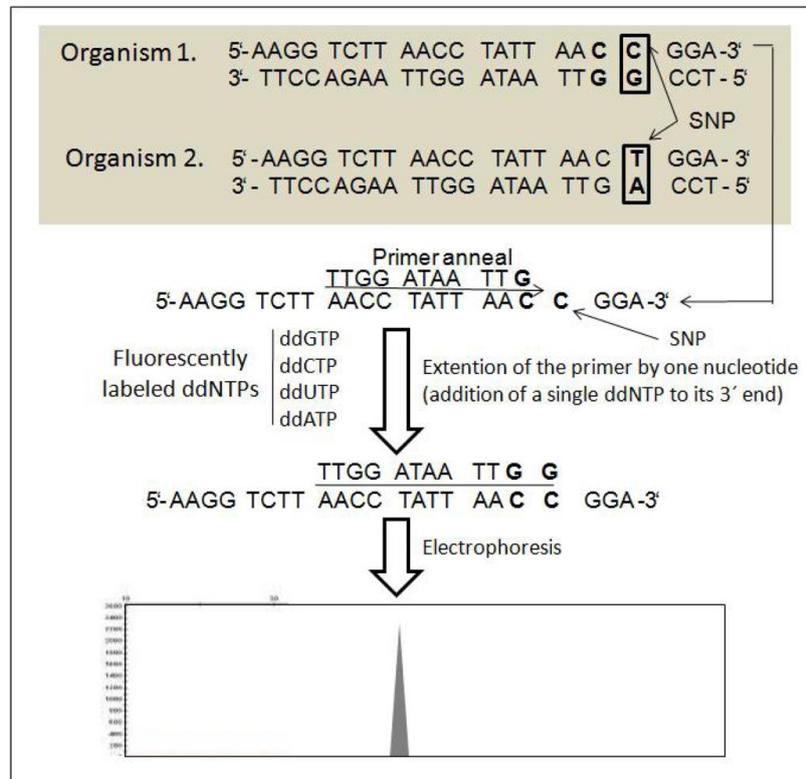


Figure 5 : Organigramme montrant le principe de base de la méthode SNP.

(Gómez and Maloo, 2009).

3.6.3 Les applications des SNPs :

Les SNPs sont capables de déterminer la diversité génétique des plantes, en particulier chez les espèces ayant une diversité génétique limitée. Récemment, un test d'extension d'amorce nucléotidique (SNUPE) ciblant le gène *gyrB* a été développé pour identifier les bactéries appartenant au complexe *Burkholderia cepacia*, qui sont très difficiles à identifier en utilisant des techniques phénotypiques et moléculaires couramment utilisées. Une nouvelle technique basée sur les SNPs a permis de détecter et de distinguer avec succès des variations génétiques spécifiques, elle est efficacement appliquée au diagnostic médical de routine puisqu'elle permet d'analyser régulièrement de nombreux échantillons en peu de temps (Ferri et al., 2010). Des approches similaires doivent être utilisées chez les plantes difficiles à discriminer pour un faible niveau de diversité génétique.

3.7 Les QTLs pour d'importants traits d'intérêt de production :

3.7.1 Les conditions d'application :

En utilisant la descendance d'un croisement entre deux parents phénotypiquement différents, on peut construire une carte génétique, qui est fondamentale pour préciser la position d'un QTL. Différents types de descendance peuvent être utilisés comme la génération F₂. Les individus de la population étudiée doivent donc être phénotypés et génotypés à l'aide d'un grand nombre de marqueurs génétiques. Les parents de la population étudiée doivent être polymorphes au niveau du caractère d'intérêt mais aussi au niveau génétique afin de pouvoir suivre la ségrégation des marqueurs moléculaires (Blair et al., 2006b).

Les recombinaisons, qui ont eu lieu durant les différentes méioses subies par les descendants en ségrégation, peuvent être détectés et on peut alors construire une carte génétique. Le nombre de ces événements entre deux marqueurs est transformé en distance génétique additive. Le caractère d'intérêt est alors mesuré sur l'ensemble de la population, dans plusieurs environnements et durant plusieurs années, afin de prendre en compte la variation environnementale dans la recherche des QTLs (Blair et al., 2006b).

3.7.2 La cartographie des QTLs chez le *P. vulgaris* :

Suite à la construction des cartes de liaison, les régions génomiques impliquées dans le contrôle des caractères héréditaires simples et complexes sont en cours d'identification. Les QTLs pour les caractères importants ont été localisés dans le genre *Phaseolus* en utilisant une variété de classe de marqueurs moléculaires et plusieurs types de populations en ségrégation. Les approches expérimentales utilisées ont été efficaces pour identifier les régions génomiques qui ont un effet significatif sur l'expression des QTLs, fournissant des informations sur le nombre et l'ampleur des effets des gènes contrôlant les proportions de la variation totale, soumis à un effet environnemental prononcé et dépend du contexte génétique. (Cichy et al., 2009b).

La plupart des caractères ciblés sont liés à des mesures agronomiquement pertinentes pour les programmes de sélection et peuvent être considérés comme des traits utiles dans le processus de sélection pour identifier les lignées avec des phénotypes souhaitables contribuant à l'augmentation de l'efficacité des programmes de reproduction du haricot commun. Les QTLs pour les caractères complexes ont été identifiés à partir des parents sauvages et des variétés locales de haricot commun car ils fournissent une grande variation

des allèles naturels pour la cartographie QTL et sont utilisés pour l'amélioration des cultures. (Hanemann et al., 2009).

3.7.2.1 L'identification des QTLs :

Koinange et al., (1996) ont été les premiers à cartographier des QTLs en utilisant une population consanguine recombinante résultant d'un croisement entre un haricot sauvage et un haricot cultivé utilisant des marqueurs moléculaires. Dans ce rapport, les caractères liés au syndrome de domestication chez le haricot ont été évalués, et les QTLs avec des effets importants (> 25-30%) liés aux habitudes de croissance et à la phénologie, à la dispersion des graines et à la dormance ont été identifiés et le génome représentant la composante substantielle de la variance phénotypique (> 40-50%) a été détecté.

Dans les études subséquentes, les QTLs liés au rendement, y compris les jours de floraison, le poids des graines, le nombre de graines par gousse et les caractéristiques architecturales ont été déterminés par l'analyse avancée du QTL de rétrocroisement (Blair et al., 2006b). Plus récemment, les caractères liés à l'habitude de croissance, tels que la hauteur de la plante, la longueur des entrenœuds et le nombre de branches par plante, ont été analysés par cartographie QTL (Checa et Blair, 2008). Parmi les facteurs qui affectent le rendement des cultures, les caractéristiques des racines jouent un rôle majeur en raison de la possibilité d'augmenter l'efficacité pour extraire et absorber l'eau et les nutriments de l'environnement.

3.7.2.2 Des QTLs pour la tolérance aux stresses :

L'analyse QTL des caractéristiques de l'architecture racinaire a permis d'établir une corrélation avec la tolérance du sol minéral. Beebe et al., (2006) ont été les premiers à mener de telles études, suivis par Ochoa et al., (2006), qui ont cartographié les QTLs de formation de racines adventives sous des concentrations contrastées de phosphore dans le sol. Plus récemment, une étude localisant les QTLs pour les caractères d'architecture racinaire sous faible tolérance au phosphore dans une population de haricots andins a été décrite (Cichy et al., 2009a).

3.7.2.3 Les limites de la cartographie des QTLs :

Plusieurs études ont décrit des QTLs contrôlant différents traits comme étant cartographiés dans les mêmes régions chromosomiques. Cependant, si ces analyses sont basées sur des cartes de liaison à basse résolution, il ne sera pas possible de déterminer si les traits sont contrôlés par des éléments génétiques uniques qui présentent des effets pléiotropiques (Se dit d'un gène ou d'une protéine dont les rôles sont multiples, qui influence la formation ou l'apparence de multiples traits), ou s'ils contiennent plusieurs gènes

étroitement liés. Le chevauchement des QTLs a été largement décrit, par exemple, des QTLs pour des concentrations accrues de différents micronutriments (Fe et Zn) co-localisés montrant une corrélation positive sans interaction avec l'environnement rapportée dans une population de haricots andins (Cichy et al. 2009b). Seule la cartographie fine sur les régions génomiques cibles a été utile pour répondre à ces questions (Hanemann et al., 2009) (Figure 6).

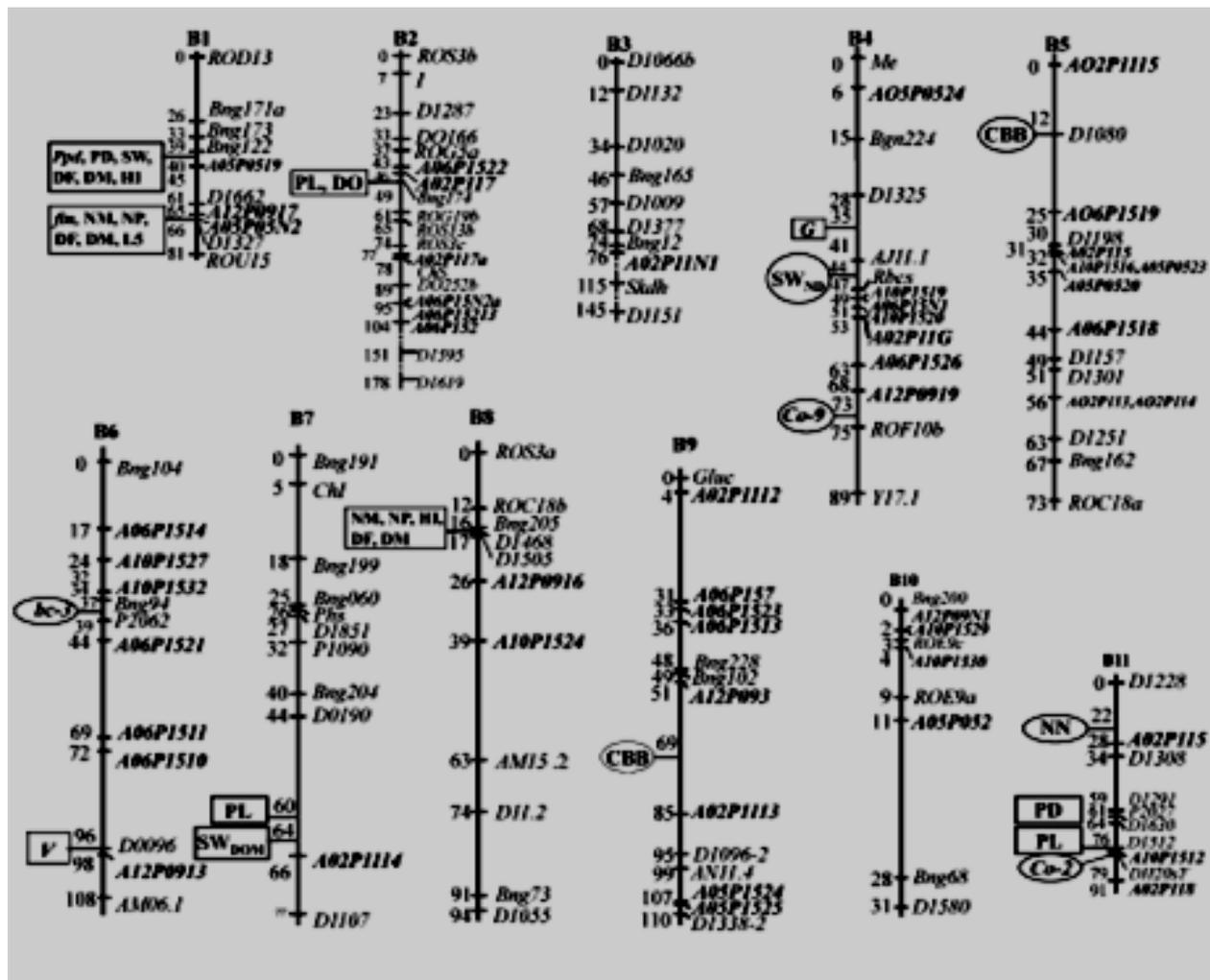


Figure 6 : Carte de liaison moléculaire du haricot commun. À la droite de chaque groupe de liaison se trouvent des marqueurs AFLP (nom en gras et commençant par A) et des marqueurs de cadre préalablement cartographiés (Freyre et al., 1998). À gauche, les traits phénotypiques se situent à proximité des marqueurs AFLP: traits de domestication (rectangles) et autres traits (ovales). Les distances génétiques sont dans les unités cartographiques de Kosambi. Principaux gènes (italiques) ou QTL (majuscules): *bc-3*, résistance du virus de la mosaïque commune du haricot; *CBB*, résistance commune au mildiou bactérien; *Co-2* et *Co-7*, résistance à l'antracnose; *DF*, jours de floraison; *DM*, jours jusqu'à maturité; *DO*, dormance; *fin*, détermination; *G*, la couleur des graines; *HI*, indice de récolte; *L5*, longueur du cinquième internode; *NM*, nombre de nœuds sur la tige principale; *NN*, nombre de nodules de Rhizobium; *NP*, nombre de gousses; *PL*, longueur de la gousse; *Ppd*, sensibilité à la photopériode; *PD*, sensibilité à la photopériode; *Poids de la graine*

SW DOM, identifié en croisement avec le haricot sauvage; SW ND poids de la graine, identifié en croisement entre les cultivars; V, couleur des fleurs et des graines. (Freyre et al., 1998).

Cependant, en ce qui concerne toutes les recherches expérimentales sur les QTLs qui ont été menées au fil des ans, seuls quelques QTLs liés aux mêmes caractères ont été cartographiés à des endroits communs dans les cartes de liaison. Cela est dû en partie aux différentes populations de cartographie utilisées, aux interactions liées aux différents antécédents génétiques des génotypes, à l'effet environnemental sur le caractère, aux limitations dues à l'alignement incomplet des groupes de liaisons entre les études et au niveau réduit du contenu d'information des marqueurs utilisés pour les analyses de liaison (Hanemann et al., 2009).

L'utilisation croissante de marqueurs co-dominants largement distribués à travers le génome et leur potentiel de transfert entre différents génotypes, comme les microsatellites, représente une perspective accommodante pour l'établissement de cartes de liaison consolidées, et rend les analyses de cartographie QTL utiles parmi différents groupes de recherche. Actuellement, ces études ont fourni un aperçu du contrôle génétique de plusieurs caractères importants sur le plan agronomique chez les haricots communs et représentent un premier pas vers la sélection assistée par marqueurs pour les caractères complexes (Hanemann et al., 2009).

4. Les applications de la théorie génétique quantitative dans l'amélioration des plantes :

4.1 Le concept de l'aptitude à la combinaison appliqué aux lignées pures :

La qualité génétique d'un génotype apparaît souvent médiocrement à partir du phénotype de la ou des plantes représentatives du génotype, notamment lorsque le génotype est représenté par une seule plante ou quelques plantes. Une manière alternative d'évaluer la qualité génétique du génotype consiste à évaluer la descendance obtenue à partir de celui-ci. En effet, dans les cultures à fécondation croisée, l'application de la sélection basée sur le test de descendance est assez courante. Les génotypes candidats, représentant une population génétiquement hétérogène, sont ensuite pollinisés par une population de testeurs produisant du pollen avec une composition haplotypique diverse. Les génotypes candidats qui produisent les meilleures descendance sont sélectionnés (Bos and Caligari, 2008).

En ce qui concerne les ensembles de lignes pures, quelque chose de similaire peut être appliquée. La qualité génétique d'une lignée pure est ensuite évaluée sur la base de la descendance obtenue en croisant la lignée avec une population de testeurs (dans le cas présent

constitué d'un ensemble de lignées pures). Cette procédure peut-être appliquée à une culture autoféconde mais également à une culture allogame. Cette dernière situation s'applique lorsqu'on teste des lignées pures dans le but de développer une variété hybride. Les génotypes candidats produisant la progéniture la plus performante auraient la capacité de combinaison la plus élevée (Bos and Caligari, 2008).

4.2 Les croisements diallèles :

La conception du croisement des lignes à évaluer peut consister en un croisement diallèle, parfois indiquée comme: un ensemble de croisements diallèles. Dans ce cas, toutes les N lignes pures sont croisées par paires. Les méthodes les plus fréquemment utilisées dans l'analyse des diallèles sont les procédures diallèles de Griffing, (1956).

Griffing (1956) a élaboré l'analyse statistique appropriée des données caractérisant les descendance à partir de quatre conceptions différentes d'un croisement diallèle :

- Croisement diallèle complet avec les parents (F_1 , réciproques et parents) : cela inclut les croisements et les parents. Le nombre total d'entrées à évaluer est égal à P^2 où P = nombre de parents.
- Croisement diallèle complet sans les parents (F_1 et les réciproques) : ceci inclut tous les croisements simples possibles parmi les P parents dans les deux directions, à savoir les croisements directes ou réciproques. Le nombre total de croisements simples est égal à $P(P-1)$.
- Croisement demi-diallèle avec les parents (F_1 et parents) : cela inclut les croisements faits dans une seule direction et les parents. Le nombre total d'entrées à évaluer est égal à $P(P+1)/2$, où P = nombre de parents.
- Croisement demi-diallèle sans les parents (F_1 seulement) : ceci inclut tous les croisements simples possibles faits dans une seule direction. Le nombre des croisements est égal à $P(P-1)/2$.

Ces quatre méthodes ont été largement utilisées pour étudier les modes d'hérédité de différents caractères dans de nombreuses cultures (Moterle et al., 2012; Townsend et al., 2012). Ces méthodes diallèles de Griffing, (1956) sont généralement utilisées pour des essais d'une année ou d'un seul endroit. Cependant, des essais multi-environnementaux sont suggérés pour produire des informations génétiques plus fiables sur le matériel testé (Zhang and Kang, 1997). De plus, il a été démontré que les premières informations sur le comportement génétique de ces caractères peuvent être obtenues par la méthode du croisement diallèle (Topal et al., 2004).

Tableau 3 : Le croisement diallèle. L'observation x_{ij} caractérisant la descendance F_{ij} obtenue à partir d'un croisement diallèle complet impliquant les lignées pures P_1, \dots, P_N ; $i, j = 1, \dots, N$. Les marges du tableau fournissent pour chaque parent maternel ainsi que pour le parent paternel la performance moyenne de la progéniture (Bos and Caligari, 2008).

		Paternal parent					
		P_1	P_j	P_N	
Maternal parent:	P_1	x_{11}	x_{1j}	x_{1N}	$\bar{x}_{1.}$

	P_i	x_{i1}	x_{ij}	x_{iN}	$\bar{x}_{i.}$

.	
P_N	x_{N1}	x_{Nj}	x_{NN}	$\bar{x}_{N.}$	
		$\bar{x}_{.1}$	$\bar{x}_{.j}$	$\bar{x}_{.N}$	$\bar{x}_{..}$

On suppose que les P géotypes candidats sont des lignées pures. Ils peuvent être désignés par P_1, P_2, \dots, P_N . Les descendance peuvent être codées comme F_{ij} , où

- i désigne le parent maternel P_i ; avec $i = 1, \dots, N$
- j se réfère au parent paternel P_j ; avec $j = 1, \dots, N$

Chaque progéniture peut être représentée par une seule plante ou par un certain nombre de plantes qui sont soit cultivées individuellement en tant que plantes randomisées, soit en tant que parcelles contenant chacune des plantes. L'interprétation génétique quantitative de l'observation caractérisant la descendance de l'hybride simple F_{ij} peut donc aller de «la valeur phénotypique d'une plante unique représentant l'hybride» à «une estimation précise de la valeur génotypique de l'hybride». Pour cette raison, l'observation sera désignée par le symbole général x_{ij} (Bos and Caligari, 2008).

Si le nombre total de descendance est ingérable ou si le sélectionneur ne parvient pas à les produire tous, par exemple en raison d'une floraison asynchrone, un croisement diallèle partiel (ou croisement diallèle incomplet) peut être effectué. Ce croisement diallèle partiel peut produire des descendance selon un schéma structuré, tel qu'utilisé pour un plan de blocs incomplet équilibré, ou il peut produire des descendance selon un plan de croisement non structuré «sauvage». Dans le premier cas, les parents maternels jouent le rôle des traitements et les parents paternels le rôle des blocs incomplets. Il faut faire attention à la conception d'un croisement sauvage, car il s'agit d'une conception connectée (Breure and Verdooren, 1995).

4.2.1 L'aptitude générale à la combinaison :

L'importance de l'aptitude à la combinaison en génétique appliquée, y compris la sélection végétale et animale, ne saurait être surestimée. Le concept de l'aptitude générale à la combinaison (GCA : General Combining Ability) a été utilisé efficacement dans la culture et

l'élevage depuis plus de 70 ans (Shikano et al., 2000 ; Wang et al., 2014a). L'aptitude générale à la combinaison est un outil efficace utilisé dans la sélection des parents en fonction de la performance de leurs descendances, généralement la F_1 , mais il a également été utilisé dans les générations F_2 et les générations suivantes (F_n). Une valeur de GCA faible, positive ou négative, montre que la moyenne d'un parent dans le croisement avec l'autre ne varie pas largement de la moyenne générale des croisements. En revanche, une valeur élevée de GCA montre que la moyenne parentale est supérieure ou inférieure à la moyenne générale. Cela indique une forte preuve du flux génétique souhaitable des parents à la progéniture à haute intensité et représente des informations concernant la concentration des gènes à prédominance additive (Franco et al., 2001).

4.2.1.1 Les interprétations de l'GCA :

Une estimation élevée de GCA indique une héritabilité plus élevée et moins d'effets environnementaux. Cela peut également entraîner moins d'interactions génétiques et une plus grande réussite dans la sélection (Chigeza et al., 2014). L'une des principales caractéristiques du parent élite à effet GCA élevé est sa grande adaptabilité. Un bon parent en performance en soi ne produit pas nécessairement de meilleurs hybrides lorsqu'il est utilisé en hybridation (Allard, 1960 ; Shukla and Pandey, 2008). Parallèlement, il est également indiqué que l'un des parents de la pire combinaison pouvait faire la meilleure combinaison si l'autre parent était sélectionné correctement (Bao et al., 2009).

4.2.2 L'aptitude spécifique à la combinaison :

Dans la détermination de GCA, l'aptitude spécifique à la combinaison SCA (Specific Combining ability) agit habituellement comme un effet de masquage. En utilisant des testeurs génétiquement larges ou en augmentant le nombre de testeurs, l'impact de SCA peut être diminué. Le choix parental uniquement sur la base de l'effet SCA a une valeur limitée dans les programmes de sélection. Par conséquent, l'effet SCA doit être utilisé en combinaison avec un hybride de haute performance en soi, des estimations de SCA favorables et impliquant au moins un parent ayant un GCA élevé (Makanda et al., 2010 ; Joshi et al., 2004).

Des observations de la performance de différents modèles croisés sur la base de SCA ont été utilisées pour faire des inférences sur l'action des gènes en jeu. Les effets SCA élevés résultants de croisements où les deux parents sont de bons combineurs généraux (c'est-à-dire, bon GCA \times bon GCA) peuvent être attribués à l'additive \times action du gène additif (Dey et al., 2014 ; Verma and Srivastava, 2004). Les effets de SCA élevés dérivés de croisements, incluant des croisements de bons \times parents combinants médiocres (Dey et al., 2014; Verma

and Srivastava, 2004), peuvent être attribués aux effets additifs favorables du bon combineur général et aux effets épistatiques d'un mauvais combineur général, qui remplit l'attribut favorable. Les effets SCA élevés se manifestent par des croisements médiocre × médiocre (Dey et al., 2014, Chigeza et al., 2014) peuvent être dus à une dominance × dominance d'interaction génique non-allélique produisant une dominance non-fixable (Wassimi et al., 1986).

La prédominance des effets non additifs a été rapportée pour l'hérédité du rendement des gousses et des caractères apparentés dans l'arachide dans le stress de salinité dans lequel il y avait des combinaisons croisées avec des effets SCA élevés provenant des parents avec GCA élevé et faible, et une autre série de croisements avec des effets SCA élevés, provenant des deux parents avec de bons effets GCA (Azad et al., 2014).

4.2.3 Les applications de l'aptitude générale et spécifique à la combinaison :

Des études de l'aptitude à la combinaison ont été menées dans de nombreuses cultures allant des céréales, des tubercules aux légumineuses, ce qui indique qu'il s'agit d'un outil crucial pour la sélection végétale. Les effets GCA pour les parents et les effets SCA pour les croisements ont été estimés dans différentes cultures, comme le blé (Khaled et al., 2013), le tournesol (Deglene et al., 1999), le riz (Qu et al., 2012), le sorgho (Makanda et al., 2010), le maïs (Dehghanpour and Ehdaie, 2013), le coton (Zeng and Pettigrew, 2015) et le pois chiche (Bicer and Sakar, 2008). Des analyses intéressantes de la capacité de combinaison ont récemment été réalisées dans la pastèque (Bahari et al., 2012) et le palmier à huile (Noh et al., 2012); alors que nous n'avons pas pu trouver dans la littérature des études associant à la fois le stress salin, le haricot commun et les aptitudes à la combinaison.

4.3 L'importance relative de l'aptitude à la combinaison :

Différentes méthodes ont été utilisées pour évaluer l'importance relative de GCA et SCA dans la sélection végétale. La première étape consiste à vérifier si GCA et SCA sont significatifs à $P = 0,05$ ou à des niveaux de probabilité plus élevés (0,01 ou 0,001 etc.). Si les deux valeurs GCA et SCA ne sont pas significatives, les effets de gènes épistatiques peuvent jouer un rôle plus important dans la détermination de ces caractères (Fehr, 1993).

Le rapport des composantes de la variance de l'aptitude de combinaison (rapport de prévisibilité) détermine le type d'action du gène impliqué dans l'expression des caractères et permet des inférences sur l'allocation optimale des ressources dans l'hybridation:

$$\frac{2\sigma^2_{gca}}{2\sigma^2_{gca} + \sigma^2_{sca}}$$

Dans lequel σ^2_{gca} se réfère à la variance de la capacité de combinaison générale et σ^2_{sca} se réfère à la variance de la capacité de combinaison spécifique. Plus ce rapport est proche de 1, plus la prédiction de GCA est grande, tandis qu'un ratio inférieur à 1 montre une action de SCA (Singh et al., 1986; Baker, 1978). Cependant, dans la mesure où, dans de nombreux cas, seuls quelques parents sont utilisés dans les croisements, l'importance de GCA et de SCA a été évaluée en utilisant le rapport de leur somme de carrés à la somme totale des carrés (Machida et al., 2010).

4.3.1 Les tests précoces :

Les contributions relatives de GCA et de SCA aux croisements peuvent être utilisées pour prendre des décisions importantes en sélection végétale. Lorsque les variances GCA prévalent sur les variances SCA, l'examen précoce des génotypes devient plus efficace et les hybrides prometteurs peuvent être reconnus et sélectionnés en fonction de leur prédiction des effets GCA (Melchinger et al., 1998 ; Smith et al., 2008).

La performance de GCA des lignées relativement plus récentes peut être prédite en utilisant un GCA d'une lignée dans une génération précoce (LV et al., 2012) et la raison scientifique de cette observation est que la GCA est contrôlée par le matériel génétique, qui est héritable et qui peut être transmis à la descendance (LV et al., 2012). Cela rend l'amélioration des cultivars hybrides plus efficace et moins coûteuse en réduisant le temps nécessaire pour cibler les hybrides et en réduisant le nombre de matériaux transportés dans les programmes de sélection. En présence des composants non additifs, la sélection doit être effectuée dans les générations ultérieures lorsque ces impacts sont fixés dans les lignées homozygotes (Bao et al., 2009 ; Bicer and Sakar, 2008 ; Chigeza et al., 2014)

4.3.2 Le design diallèle :

Dans le croisement diallèle, les lignées parentales se croisent dans toutes les combinaisons possibles (à la fois directes et réciproques) pour reconnaître les parents comme meilleurs ou mauvais combineurs généraux par GCA et les combinaisons croisées spécifiques par SCA. Les conceptions de croisements diallèles complets impliquent des occurrences de nombres égaux de chacun des différents croisements parmi les lignées consanguines p . Lorsque p , est grand, ou que les croisements réciproques sont analogues aux croisements directs, il devient impossible de faire une expérience en utilisant une conception en

croisement diallèle complet. Dans de telles circonstances, des conceptions de croisements diallèles partiels (un sous-ensemble de croisements) peuvent être utilisées (Sharma, 2006).

4.4 Les effets de l'aptitude générale et spécifique à la combinaison :

Tous les types diallèles estiment la variation due aux croisements qui est partitionnée en sources dues à la GCA et la SCA. Ainsi, les différences entre les diallèles sont basées sur le fait que les parents ou les effets réciproques sont inclus dans le modèle. Les croisements réciproques estiment la variation due aux effets maternels, qui sont attendus pour certains caractères. Un ratio de variance GCA/SCA relativement plus important démontre l'importance des effets génétiques additifs et un ratio plus faible indique une prédominance des effets des gènes dominants et / ou épistatiques (Christie and Shattuck, 1992). Les effets GCA et SCA pour les lignées individuelles ne sont calculés que lorsque l'analyse globale montre que les carrés moyens pour GCA et SCA sont significatifs.

4.5 Importantes considérations pour GCA et la cartographie QTL :

La capacité de prédire des combinaisons génotypiques optimales pour divers objectifs de sélection végétale sur la base de données génétiques à base moléculaire augmente remarquablement l'efficacité des programmes de sélection végétale. La première tentative d'utiliser la base génétique derrière l'aptitude de combinaison a été réalisée par Griffing, (1956). Il a suggéré l'utilisation du modèle de croisements diallèles pour répartir la variance génétique en δ^2 GCA et δ^2 SCA et a estimé l'effet GCA.

4.5.1 La corrélation GCA et QTL pour la population d'étude :

Théoriquement, lorsque GCA est considéré comme un trait, toutes les populations pour la cartographie QTL peuvent être appliquées pour cartographier les locus GCA. Cependant, les populations telles que F_2 , $F_{2:3}$ et BC_1 , se séparent au niveau du génome entier (sont hétérozygotes dans la plupart des locus) et lorsqu'elles sont utilisées, les observations répétées ne peuvent pas être faites au niveau individuel ou bloquer et inhiber la conduction. Deux voies alternatives sont utilisées pour permettre la détection répétée d'effets non additifs par la création d'hétérozygotes à partir de populations permanentes: 1) développer des hétérozygotes par test-cross (TC) ou Backcross (BC) à partir d'une population recombinante (RIL) (Li et al., 2001; Mei et al., 2005), 2) de générer une population F_2 par inter-accouplement entre les RILs (Hua et al., 2003).

Dans la première, le génotype d'un hybride est développé à partir des génotypes des lignées parentales. Les actions géniques peuvent être jugées particulièrement additives ou non

additives en comparant les QTLs cartographiés dans les RILs et leurs populations hybrides TC (Mei et al., 2005). Dans les hybrides du backcross, le génotype de chaque hybride est connu à chaque locus, cependant dans les populations TC, l'homologie entre les allèles des RIL parentaux et le testeur n'est pas claire. Il est montré qu'un testeur de ligne d'élite non apparenté est aussi efficace que les testeurs de faible performance associés (Hallauer, 1990). Frascaroli et al., (2009) ont comparé la détection de QTL sur des descendance test-cross apparentées et non apparentées et ont conclu que pour les caractères ayant des effets dominants, tels que le rendement en grains et le nombre de grains par plante, le testeur le plus efficace était le testeur mal performant. En revanche, les lignées consanguines non apparentées étaient plus efficaces pour les caractères caractérisés par l'action génique additive dominante, tels que les jours d'excrétion du pollen, la hauteur de la plante, l'humidité du grain et le poids du grain, que les lignées consanguines apparentées.

4.5.2 La cartographie QTL de GCA :

La précision de la mesure GCA des lignées consanguines testées est de la plus haute importance pour augmenter la puissance de la cartographie QTL de GCA. LV et al., (2012) ont examiné la faisabilité de la cartographie QTL-GCA et ont rapporté que la cartographie GCA peut être réalisée en utilisant diverses populations génétiques, y compris les BCRIL et les lignées d'introgession (ILs) dans le maïs. Sur 69 QTLs identifiés pour le rendement grainier et les caractères associés au rendement (38 dans les ILs et 63 dans les populations test-cross), seuls 9 locus ont été détectés pour GCA sur 5 chromosomes du maïs. Leurs résultats ont montré que le contrôle génétique de la GCA est complètement différent de celui des lignées consanguines. De plus, Qi et al., (2013) ont identifié 56 loci QTLGCA significatifs pour cinq caractères liés au rendement chez le maïs en utilisant un ensemble de croisements de tests avec des ILs dans différentes conditions environnementales. Ils ont également trouvé une corrélation significative entre le nombre de locus significatif de GCA dans les ILs et la performance de GCA.

4.5.3 La puissance de détection de QTL :

Les lignées consanguines recombinantes et les doubles haploïdes (DH) sont considérées comme des populations utiles pour la cartographie QTL, en raison du niveau élevé d'homozygotie de chaque individu et de l'homogénéité au sein de chaque lignée. Un niveau élevé d'homozygotie entraîne une estimation de δ^2 GCA supérieure par rapport aux résultats de ségrégation des populations, tandis que l'interaction « dominance x dominance »

est supprimée. Par exemple, dans une population RIL, $\delta^2\text{GCA}$ devrait être deux fois plus élevé que celui d'une population $F_{2:3}$ (Li et al., 2013)

Une variance génétique plus élevée devrait aboutir à une héritabilité plus élevée, et donc à une détection QTL plus puissante (Lande and Thompson, 1990). Ce fut le cas dans l'étude d'Austin et al., (2000,2001), qui ont identifié plus de QTLs dans la population $F_{6:8}$ que dans la population $F_{2:3}$ développés à partir de la même source. Dans une autre étude de Li et al., (2013), la puissance de la cartographie QTL pour GCA était classée dans l'ordre de $\text{DH RIL} > F_2 > \text{BC}$, lorsque l'héritabilité était faible. Dans la descendance test-cross, la variance de dominance qui influence grandement le phénotype des hybrides est principalement dérivée de la différence allélique entre la lignée testée et le testeur, et d'une somme d'interactions entre locus hétérozygotes. De plus, ces variances de dominance vont certainement minimiser la puissance de l'identification du locus GCA. Li et al., (2013) ont affirmé que la croissance de la taille de l'échantillon et le sens large de l'héritabilité pourraient augmenter le pouvoir de détection du QTL pour la GCA. Cependant, la croissance du nombre de testeurs n'a pas pu augmenter la puissance de détection des QTLs (He et al., 2001; Su et al., 2010). Dans une étude de He et al., (2001), l'augmentation de la taille de l'échantillon de 100 à 400 a entraîné une augmentation spectaculaire de la puissance de détection QTL.

4.6 La sélection assistée par marqueurs (MAS) :

La sélection assistée par marqueurs (MAS) a été considérée comme une approche prometteuse en sélection végétale. La pyramidation réussie des gènes désirés associés à la capacité de combinaison par MAS, aboutissant à une aptitude de combinaison améliorée des lignées sélectionnées de riz, a été illustrée par Liu et al., (2004). Dans une étude de Stuber, (1994) utilisant le MAS, les QTLs liés au rendement grainier du maïs ont été transférés avec succès. En conséquence, la performance test-cross a été améliorée. Pour une meilleure contribution des associations marqueur-QTL dans la sélection végétale, leur association devrait être cohérente entre divers antécédents génétiques de testeurs de lignées et à travers les populations reproductrices dans un groupe hétérotique. En conséquence, un effet de masquage de l'allèle testeur est impliqué dans des résultats QTL incohérents parmi les testeurs (Li et al., 2013).

4.7 L'effet d'hétérosis (vigueur hybride) :

L'effet d'hétérosis est l'un des phénomènes les plus significatifs en biologie. Son utilisation commerciale a considérablement augmenté la production brute tant dans la

production agricole que dans l'élevage (Duvick, 2001 ; Fu et al., 2014). Publiées il y a plus de cent ans, les premières publications sur cet effet (Shull, 1908, 1914) ont jeté les bases de l'amélioration végétale moderne non seulement dans le maïs mais aussi dans d'autres cultures économiquement intéressantes. Une telle importance de l'hétérosis a servi d'impulsion pour étudier les mécanismes génétiques de ce phénomène unique et le développement de modèles théoriques (Charlesworth and Willis, 2009).

4.7.1 Les modèles génétiques de l'hétérosis :

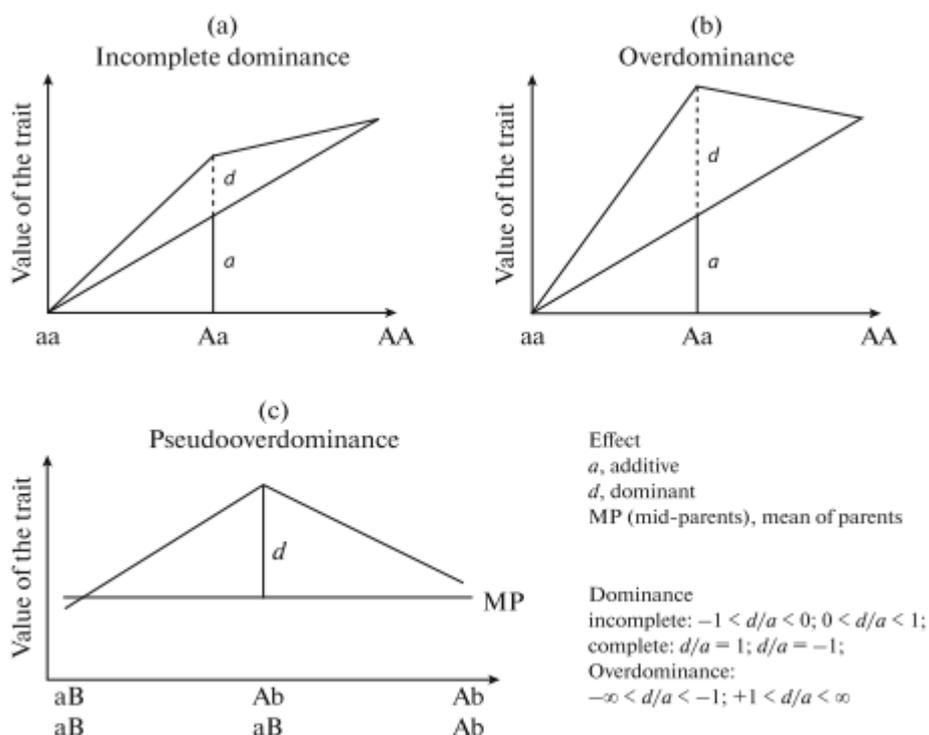


Figure 7 : Modèle génétique de l'hétérosis : *Dominance* (a) et la *sur-dominance* (b), qui correspondent au modèle du locus unique; *pseudo-dominance* (c), qui se produit lorsque deux locus avec des effets additifs opposés sont étroitement liés, selon (Goff and Zhang, 2013).

Les idées de base sur les mécanismes de deux phénomènes fonctionnellement opposés (consanguinité et hétérosis) sont renvoyées aux modèles mono et locus multiple Figure 7. Le modèle à locus unique suppose (1) la dominance, dans laquelle l'action des récessifs délétères est supprimée par un homologue dominant, et (2) la surdominance, qui est également due à l'interaction entre les membres de la même paire d'allèles. L'explication génétique de l'hétérosis et de la dépression de consanguinité dans le cas d'un modèle à locus unique est associée à des niveaux d'allèles dominants. Dans le premier cas, l'avantage des hétérozygotes est supposé; dans le second cas, l'effet d'allèles mutants partiellement ou totalement récessifs,

conduisant à une diminution de la viabilité des homozygotes. Le modèle multi-locus considère l'hétérosis à partir de la position des interactions non alléliques des gènes ou de l'épistasie (Khotyleva et al., 2017).

4.7.1.1 Les réponses hétérotiques :

Lors de l'étude des effets des interactions géniques sur un certain nombre de caractères quantitatifs, il a été montré que l'hétérosis ne dépend pas, en règle générale directement de l'ampleur et du type de l'action du gène. Par exemple, une plus grande extension de la dominance, ainsi que l'apparition d'une interaction non allélique, ne sont pas toujours accompagnées d'un effet d'hétérosis plus élevé. Probablement, les trois types, additivité, dominance et épistasie, agissent ensemble lors du développement d'une réponse hétérotique en F₁. Ainsi, l'hétérosis ne peut être expliquée par une seule raison génétique ou par un seul type d'interaction génique. C'est l'effet résumé de l'action phénotypiquement similaire du processus génétique hétérogène et, apparemment différentes causes génétiques sont à la base de différentes formes d'hétérosis (Birchler and Veitia, 2010 ; Birchler et al., 2016).

Ce concept, expliquant la complexité des mécanismes génétiques de l'hétérosis, a été exprimé par Mather, (1955) et développé plus tard par Turbin, (1961), en partant de l'hypothèse que le développement normal du trait est le résultat d'un certain équilibre entre les actions de divers facteurs héréditaires dirigés de façon opposée sur ce caractère. Enlever, changer ou remplacer certains d'entre eux donnera inévitablement la préférence à des facteurs ayant l'effet inverse, et dans certains cas cela devrait conduire à un changement dans l'expression de certains caractères dans les organismes avec un équilibre génétique biaisé. Récemment, des études sont apparues qui confirment au niveau moléculaire l'équilibre d'action de divers facteurs génétiques dans la formation d'un phénotype supérieur (Birchler and Veitia, 2010 ; Birchler et al., 2016).

4.7.2 Les aspects physiologiques, biochimiques et moléculaires de l'hétérosis :

Des études menées au cours des différentes années ont confirmé que les trois types d'action génique (additivité, dominance et épistasie) contrôlent mutuellement la manifestation finale de l'effet hétérotique et que l'hétérosis ne peut pas être expliquée du point de vue d'un concept théorique particulier. L'hétérosis devrait être considérée comme l'effet global de l'action phénotypiquement similaire du processus génétique hétérogène et, apparemment diverses causes génétiques soulignent la manifestation de l'hétérosis (Khotyleva et al., 2005). En même temps, sa considération du point de vue de l'hypothèse de l'équilibre génétique

n'exclut pas la possibilité d'étudier le rôle de certains types d'interactions de facteurs héréditaires comme causes d'hétérosis dans des modèles théoriques simplifiés.

L'étude du phénomène d'hétérosis s'est accompagnée d'une accumulation d'informations sur les mécanismes de sa manifestation à différents niveaux: moléculaire, biochimique, physiologique, cellulaire et organismique. L'effet de l'hétérosis se manifeste dans la coordination de toutes les réactions et des systèmes de croissance efficaces dans le milieu. Le concept de complémentation des systèmes biochimiques relie les hypothèses de dominance et de sur-dominance parce qu'il est basé sur l'interaction des allèles multiples et de la complémentation intergénique, à la suite de laquelle les processus biochimiques sont intensifiés (Khotyleva et al., 2005).

4.7.3 Le concept de bioénergie dans l'analyse de l'hétérosis :

Khotyleva et al., (1991) ont proposé une approche bioénergétique de l'analyse de l'hétérosis. Titok, (2002) a formulé le principal problème du concept de bioénergie, selon lequel l'hétérosis est causée par l'équilibre bioénergétique à l'état hétérozygote lorsque le blocage génétique est éliminé en raison de l'action compensatoire des génomes des parents porteurs des locus ségrégués et des goulots d'étranglement du métabolisme énergétique. On montre que l'avantage des hybrides F_1 est dû au bon équilibre de l'activité des principaux systèmes producteurs d'énergie: photophosphorylation, phosphorylation oxydative, glycolyse, voie pentose-phosphate, cycle de l'acide tricarboxylique et processus de croissance au cours de l'ontogenèse.

4.7.4 La génétique moléculaire dans l'étude de l'hétérosis :

De nouvelles perspectives dans l'étude de l'effet de l'hétérosis sont révélées par les méthodes contemporaines de génétique moléculaire, qui permettent d'étudier la variabilité de l'ADN et d'étudier les séquences structurelles et non structurelles du génome. La variabilité à ce niveau est plusieurs fois supérieure à sa manifestation phénotypique. Ces dernières années, des recherches approfondies ont été menées pour identifier les marqueurs liés à l'hétérosis (Wang et al., 2014b ; Feng et al., 2015). Des résultats prometteurs ont été obtenus sur le nombre de variétés de maïs et de tomate utilisant différents types de marqueurs d'ADN (Springer and Stupar, 2007 ; Shapturenko et al., 2015).

4.8 L'héritabilité :

4.8.1 Le concept du sens large et étroit de l'héritabilité :

L'héritabilité est souvent utilisée par les phytogénéticiens pour quantifier la précision des essais sur un seul champ ou des séries d'essais sur le terrain. Elle est définie comme la

proportion de la variance phénotypique parmi les individus d'une population qui est due à des effets génétiques héréditaires, également connus sous le nom d'héritabilité au sens étroit. De même, l'héritabilité au sens large est définie comme la proportion de la variance phénotypique attribuable à un effet sur le génotype entier, comprenant la somme des effets additifs, dominants et épistatiques (Nyquist, 1991 ; Falconer and Mackay, 1996).

4.8.2 L'application de l'héritabilité :

L'héritabilité est un paramètre clé de la génétique quantitative car elle détermine la réponse à la sélection. Dans la sélection végétale, il existe de nombreux modèles d'accouplements différents, et les unités d'observation sont assez diverses, allant des plantes individuelles au moyen d'un génotype testé dans un large éventail d'environnements dans des expériences conçues, comme l'ont souligné Holland et al., (2003), cela complique la définition et l'estimation de l'héritabilité.

Une difficulté particulière est que pratiquement toutes les équations d'héritabilité supposent des données équilibrées, alors que la majorité des essais présentent une forme de déséquilibre. Spécifiquement, de grands ensembles de génotypes sont habituellement testés dans des conceptions impliquant des blocs incomplets, et les définitions d'héritabilité communes ne s'appliquent pas dans de tels cas. En outre, les définitions standard supposent que les essais sont analysés par des modèles avec effets aléatoires indépendants pour les blocs, les parcelles, les plantes, etc., tandis que les modèles spatiaux impliquent souvent des structures complexes de variances-covariances relatives aux unités d'observation (Holland et al., 2003).

4.8.2.1 Les équations de l'héritabilité :

Pour une série équilibrée de m essais présentés dans des blocs complets randomisés avec r réplicats, l'héritabilité au sens large sur une base entrée-moyenne est définie comme suit:

$$H^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_p^2}$$

(Falconer et Mackay 1996), où l'équation σ_g^2 est la variance génotypique et l'équation σ_p^2 est la variance phénotypique. Plusieurs auteurs utilisent la notation H à la place de H^2 , par exemple Nyquist, (1991). En outre, H^2 est parfois appelé «répétabilité». Le «phénotype» est la

moyenne d'un génotype parmi m essais (environnements) et r réplicats par essai. Cela a une variance de :

$$\sigma_p^2 = \sigma_g^2 + \frac{\sigma_{ge}^2}{m} + \frac{\sigma^2}{rm},$$

Où l'équation σ_{ge}^2 est la variance d'interaction génotype-environnement et l'équation σ^2 est la variance d'erreur résiduelle. De même, l'héritabilité au sens étroit pour une moyenne est définie comme :

$$h^2 = \frac{\sigma_a^2}{\sigma_p^2},$$

Où l'équation σ_a^2 est la variance génétique additive et l'équation σ_p^2 est donnée un peu plus haut. Dans le cas d'un plan équilibré, H^2 et h^2 ont un certain nombre d'interprétations simples et directes. Par exemple, H^2 est la fraction de la variation phénotypique qui peut être expliquée par le génotype, où le phénotype est considéré comme la moyenne d'entrée arithmétique. Ainsi, H^2 est équivalent au coefficient de détermination d'une régression linéaire du génotype (latent) sur le phénotype observé. C'est aussi la corrélation au carré entre la valeur prédite (phénotypique) et la valeur génétique ou génotypique réelle. Plus important encore, l'héritabilité (H^2 et h^2) peut être utilisée pour prédire la réponse à la sélection R comme $R = h^2S$ (ou H^2S), où S est le différentiel de sélection (Falconer and Mackay, 1996), et c'est peut-être sa principale utilisation pour les sélectionneurs.

4.8.2.2 Le calcul de l'héritabilité :

La question de savoir comment l'héritabilité devrait être calculée dans le cas plus général des données déséquilibrées et des effets génétiques corrélés est soulevée?. Diverses approches peuvent être trouvées dans la littérature, dont la plupart proposent une définition généralisée de l'héritabilité tenant compte des données déséquilibrées et/ou des effets génétiques corrélés (Holland et al., 2003 ; Helms and Hammond, 2006 ; Oakey et al., 2006).

Nous croyons que d'autres définitions de l'héritabilité sont parfois problématiques, car elles ne partagent pas toujours les mêmes interprétations directes que leurs équivalents de données équilibrées. En outre, ce n'est pas souvent l'héritabilité elle-même qui présente un intérêt, mais une certaine quantité apparentée qui, dans le cas équilibré, peut être directement

calculée à partir d'une équation simple, comme celle de la réponse à la sélection. Nous pensons qu'il est important de bien réfléchir à la notion ou à la définition spécifique de l'héritabilité que nous avons en tête ou à la quantité qui en dérive dans le cas équilibré qui présente un intérêt immédiat. Il est généralement possible de calculer ces quantités directement et, dans des contextes complexes, cela peut être plus simple que d'essayer de calculer une mesure significative de l'héritabilité (Helms and Hammond, 2006 ; Oakey et al., 2006).

5. L'association entre marqueurs moléculaires et traits d'intérêt :

5.1 Analyse à un seul marqueur :

Après qu'une source, souvent une accession sauvage, a été identifiée comme possédant un trait intéressant pour un programme de sélection, une question logique suivante pour les sélectionneurs de plantes est: "Comment ce trait peut-il être incorporé dans un matériel de sélection précis?" La réponse dépend largement de la nature génétique du trait. Pour étudier la nature génétique d'un trait, les données phénotypiques et génotypiques des marqueurs moléculaires peuvent, en détectant des associations entre les marqueurs et les caractères, aider à déterminer le nombre et la nature d'un locus génétique / quantitatif contrôlant un trait (David et al., 2011).

Pour détecter les associations entre les marqueurs moléculaires et les traits d'intérêt, les approches d'analyse des données comprennent l'analyse de marqueur unique, la cartographie d'intervalle simple (SIM), la cartographie à intervalles multiples (MIM) et la cartographie d'intervalle composite (CIM). Bien que ces approches soient désignées pour l'analyse QTL, elles sont généralement utilisées chaque fois que la méthode de contrôle génétique d'un trait est inconnue (David et al., 2011).

5.2 L'application de la méthode :

L'analyse à un seul marqueur est la méthode la plus simple pour détecter les QTLs associés à des marqueurs uniques. Les méthodes statistiques utilisées pour l'analyse à un seul marqueur comprennent les *t-tests*, l'analyse de la variance (ANOVA) et la régression linéaire. La régression linéaire est la plus couramment utilisée car le coefficient de détermination (r^2) du marqueur explique la variation phénotypique apportée par le QTL lié au marqueur. En règle générale, l'hypothèse nulle testée est que la moyenne de la valeur de trait est indépendante du génotype d'un marqueur particulier. L'hypothèse nulle est rejetée lorsque le test est supérieur à une valeur cruciale, et il est déclaré qu'une QTL est liée au marqueur sous étude.

Les méthodes du *t-test*, ANOVA et de la régression linéaire simple sont toutes équivalentes lorsque leurs hypothèses testent les différences entre les moyennes phénotypiques. Dans l'analyse de la variance aux locus marqueurs, à chaque loci du marqueur, on sépare les descendants en deux groupes, selon leurs génotypes exprimés par le marqueur, et on compare les distributions phénotypiques des deux groupes (Boopathi, 2013).

Par exemple, dans la Figure 9, nous voyons que les individus avec le génotype «aa» pour un marqueur ont des valeurs de phénotype légèrement plus élevées que celles avec le génotype «Aa» et «AA» à ce marqueur, indiquant que le marqueur est lié à un QTL. En revanche, lorsque les distributions phénotypiques des classes génotypiques sont approximativement les mêmes, il est décidé que ce marqueur ne semble pas être lié à un QTL. (Boopathi, 2013).

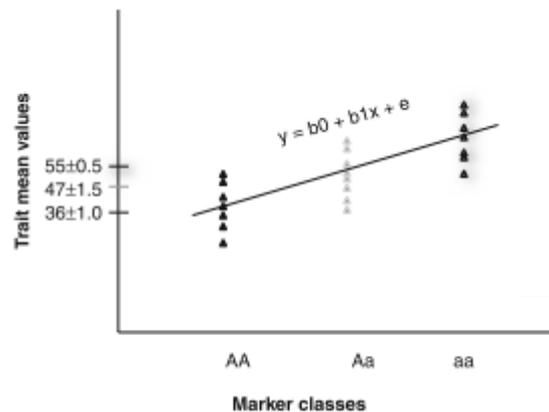


Figure 9 : Principe de l'analyse à un seul marqueur : $y = b_0 + b_1x + e$, où y est la valeur phénotypique de la ligne, b_0 est la moyenne de la population, b_1 est l'effet additif du locus sur le trait et e est un terme d'erreur résiduel. x est directement lié au code génotypique au locus testé pour la lignée considérée, il est -1 (pour le parent femelle) ou 1 (pour le parent donneur ou mâle).

5.3 Avantages et limites de la méthode :

Le principal avantage de l'analyse de la variance au niveau des locus des marqueurs est sa simplicité, elle peut être réalisée avec des logiciels statistiques de base. En plus, une carte génétique des marqueurs n'est pas requise et la méthode peut être facilement étendue pour tenir compte de plusieurs locus. Un autre avantage est la facilité d'inclusion de covariables, telles que le sexe, les traitements ou les effets environnementaux (Boopathi, 2013).

Cependant, l'inconvénient majeur de cette méthode est que plus un QTL est éloigné d'un marqueur, moins il est probable qu'il soit détecté. C'est parce que la recombinaison peut se produire entre le marqueur et le QTL. Cela fait que l'ampleur de l'effet d'un QTL est sous-

estimée. L'utilisation d'un grand nombre de marqueurs d'ADN séparés sur l'ensemble du génome (généralement à des intervalles inférieurs à 15 cM) peut minimiser les deux problèmes (Boopathi, 2013).

6. Conclusion :

Le haricot commun (*Phaseolus vulgaris* L.), a été choisi comme une légumineuse modèle grâce à sa diversité génétique. Elle est diploïde et autogame, avec un petit génome, qui facilite les études génétiques et moléculaires dans la compréhension des mécanismes de l'adaptation aux stress abiotiques et biotiques. Sa capacité de pouvoir fixer l'azote atmosphérique fait que cette culture ne nécessite pas d'engrais azoté qui polluent la rhizosphère. Enfin, cette plante protéagineuse présente un intérêt agronomique majeur qui repose sur un bon rapport production/valeur nutritive d'où l'intérêt d'utiliser l'haricot commun dans notre recherche.

Chapitre 2

La sélection parentale sous conditions salines et le croisement demi-diallèle chez le haricot (*Phaseolus vulgaris* L.).

1. Introduction :

Le haricot commun est l'une des cultures majeures des légumineuses; étant une espèce glycophyte, elle voit sa production drastiquement diminuée (Duc et al., 2015). Plusieurs mécanismes de défense sont employés par les plantes pour contrer le stress induit par la salinité de plus la longueur de la racine et de la tige fournissent des indications importantes de la réponse des plantes au stress salin. La compréhension de la relation entre le développement des plantes sous conditions environnementales défavorables, et la qualité des graines aux niveaux physiologique et agronomique sont des objectifs fondamentaux de la science des semences (Bláha and Pazderů, 2013).

Dans un programme de sélection, le sélectionneur a énormément de flexibilité dans le développement des populations ségréantes à partir desquelles commence la sélection. La façon dont les parents doivent être croisés peut avoir une grande influence sur la recombinaison génétique et le résultat d'une variété particulière, notamment chez le *P. vulgaris*. Dans certains cas, le sélectionneur peut choisir plus de quatre parents. Cette population serait qualifiée de complexe et très rarement utilisée en raison du temps nécessaire pour développer une telle population. Il convient de souligner que le succès du croisement ne dépend pas nécessairement du nombre des parents impliqués dans un programme de sélection. Il faut souligner aussi que la durée du cycle de reproduction est une considération importante pour tous les sélectionneurs (Kristin et al., 2010).

Le choix des parents avec des performances contrastées est très important pour débiter un programme de sélection, la tolérance à la salinité et la production des polyphénols sont les deux traits majeurs investigués dans notre étude, la construction de la population initiale peut être faite de plusieurs façons, le croisement diallèle est le mieux adapté à notre recherche, il est salué par les phytogénéticiens depuis longtemps comme une méthodologie pouvant rationaliser l'étude génétique en variation continue, elle apporte des informations supplémentaires auprès des parents qui ne peuvent pas être recueillies par d'autres techniques ; d'où l'intérêt du croisement diallèle (Sharma, 2006).

Le but de notre étude dans ce chapitre est de sélectionner des génotypes parentaux cultivés en Algérie, les mieux adaptés sous stress salin pour les traits de productivité essentiellement, ainsi que du phénotype des graines qui est indicateur de présence ou d'absence de composés phénoliques. Les parents choisis feront l'objet d'un croisement demi-diallèle pour la production des populations F_1 et F_2 .

2. Matériel et méthodes :

2.1 La sélection parentale en milieu salin :

2.1.1 Le matériel végétal :

Six variétés de haricot commun communément cultivées en Algérie ont été retenues pour notre recherche: Améliore Roza, Amina, Coco nain, MGT, MGT Nelson et Sunray (image 1), elles ont été fournies par les agriculteurs conformes à celles décrites par l'institut technique des cultures maraîchères et industrielles (ITCMI). Notre recherche n'a pas été fructueuse auprès des universités et des centres de recherches pour des génotypes déjà étudiés.



Image 1 : Représentation phénotypique des six variétés de haricot ; A : Sunray ; B : MGT ; C : Coco Nain ; D : Améliore Roza ; E : MGT Nelson ; F : Amina.

Les six variétés ont été choisies selon la couleur de leur enveloppe de la graine (Tableau 4) ; La couleur de l'enveloppe est indicatrice de présence de métabolite secondaire en majorité les polyphénols dont les tannins condensés, les anthocyanes, les flavonoïdes et qui présentent de

hautes capacités antioxydantes notamment pour la tolérance aux différents stressés biotiques et abiotiques (Ganesan and Xu, 2017).

Tableau 4 : Les géotypes parentaux utilisés pour l'étude.

Géotypes parentaux	Forme de la graine	Couleur de l'enveloppe	Origines
Sunray	Petite	Marron	France
Coco nain	Grande	Blanche avec des rayures brunes	États Unis
MGT	Moyenne	Marron foncé	États Unis
MGT Nelson	Petite	Blanche	États Unis
Améliore Roza	Grande	Crème avec des rayures rouges	France
Amina	Petite	Blanche	Turquie

2.1.2 Les méthodes appliquées :

2.1.2.1 L'homozygotie (lignées pures) :

Le haricot est une espèce autogame, de ce fait, tous les individus d'un cultivar particulier sont génétiquement identiques, sauf qu'il y a parfois pollinisation croisée, de sorte qu'il peut y avoir des variations intra-population et cela peut être observé dans toutes les bandes (du produit PCR) contenant plus d'un allèle dans les graines de l'accession. Pour cela les six cultivars ont fait l'objet d'autofécondation sur trois générations durant l'année 2013-2014 ; confirmant ainsi l'homozygotie des géotypes parentaux utilisés pour notre étude.

2.1.2.2 La description du site :

Toutes les expérimentations à savoir, la germination des graines, la vérification de l'homozygotie ainsi que la sélection parentale sous stress salin ont été faites dans une pépinière privée près de la commune de Aïn Smara, Constantine. Le climat de Aïn Smara est chaud et tempéré, les précipitations sont plus importantes en hiver qu'en été. Selon la classification de Köppen-Geiger, le climat est du type Csa (climat méditerranéen) (Kottek et al., 2006). Sur l'année, la température moyenne à Aïn Smara est de 15.8 °C. Il tombe en moyenne 550 mm de pluie par an selon l'office national météorologique algérien.

2.1.2.3 La germination des graines :

Les six variétés ont été plantées durant l'été 2015, 20 graines de chaque géotype parental ont été stérilisés avec de l'hypochlorite de sodium 5% (v/v) pendant 10min puis rincées trois fois avec de l'eau distillée; les graines ont été semées dans des bacs de

germination en utilisant de la tourbe commerciale, à l'abri de la lumière, le taux d'humidité de la tourbe a été contrôlé de sorte qu'il soit en permanence humide ainsi que la température des bacs (entre 25 et 30°C).

2.1.2.4 Le dispositif expérimental :

Dans ce contexte un plan factoriel a été conduit dans un dispositif aléatoire complet ; après dix jours de germination cinq plantules (cinq répétitions) de chaque génotype ayant le même niveau de croissance ont été plantées sur cinq parcelles de terrain chaque parcelle ayant un niveau de salinité et les six génotypes parentaux, ramenant au total 120 unités expérimentales pour notre étude ; la distance entre chaque parcelle était de 1m (pour éviter la contamination avec d'autres niveaux d'NaCl), et la distance entre chaque plantule était de 50 cm. Les conditions durant l'expérimentation étaient comme suite : durée de la lumière 14h ; température $30 \pm 2^\circ\text{C}$ et l'humidité relative $60\% \pm 5\%$; la conductivité électrique du sol et de l'eau d'irrigation a été mesurée avant l'expérimentation : elle était inférieure à 2 dS m^{-1} soit moins de 20mM NaCl.



Image 2 : Parcelle de 50mM NaCl avec les six génotypes parentaux : *Améliore roza*, *MGT Nelson*, *MGT*, *Amina*, *Coco nain*, *Sunray*.

2.1.2.5 Les traitements salins :

Quatre traitements ont été appliqués aux six variétés, contrôle : eau non-salinisée, 25mM, 50mM et 150mM d'NaCl. Le traitement salin a été appliqué graduellement à l'apparition des premières trifolioles pour éviter le choc osmotique (Shavrukov, 2013), à chaque traitement d'NaCl on ajoutait 25mM jusqu'à ce qu'on atteigne la concentration désirée ; une irrigation avec de l'eau non salinisée a été appliquée après chaque deux traitements salins pour éviter l'accumulation des sels et dépasser ainsi le taux de salinité

désiré pour chaque traitement. Le traitement salin a été maintenu durant toute la croissance végétative des plantes et jusqu'à l'obtention des gousses sèches.

2.1.2.6 Les paramètres mesurés :

Le choix des parents doit être aussi proche que possible de l'idéal, car les populations à potentiel génétique réduit peuvent entraîner une perte de temps et d'argent. Ainsi, la haute performance, la grande adaptabilité et la stabilité du rendement de chaque individu sont les principales caractéristiques prises en compte dans le choix des génotypes parentaux. De ce fait trois caractères majeurs de production ont été évalués : nombre des gousses, nombre des graines ainsi que le poids total des gousses (Kottek et al., 2006).

2.1.2.7 L'analyse statistique :

Les valeurs des paramètres étudiés représentent la moyenne de cinq répétitions par traitement pour les six génotypes parentaux. L'analyse statistique a été effectuée en utilisant l'ANOVA à deux facteurs ($P < 0.01$). Basée sur les résultats d'analyse de variance, la comparaison multiple des moyennes a été réalisée en utilisant le Tukey's HSD test, pour un intervalle de confiance de 95 %, afin de déterminer les variations significatives entre les différents traitements.

2.2 Résultats et discussion :

2.2.1 Les taux de germination des graines :

Les taux de germination au 10^{ème} jour sont présentés dans la figure 10.

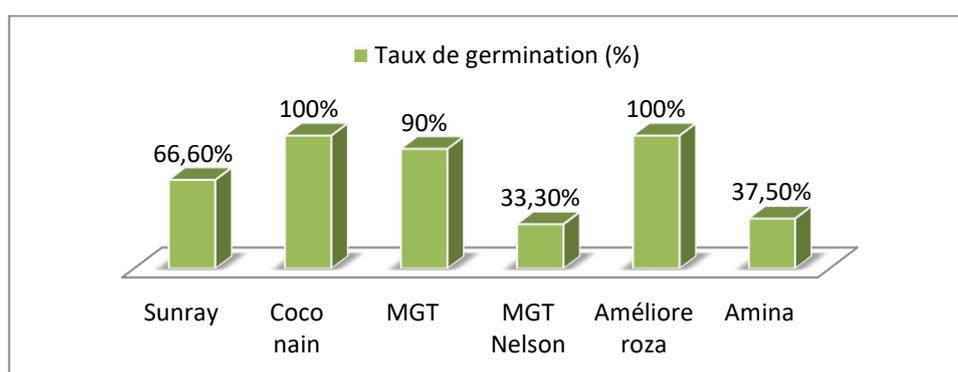


Figure 10 : Taux de germination des différents génotypes parentaux au 10^{ème} jour.

Les génotypes parentaux Coco nain et Améliore roza présentent les plus hautes valeurs, alors que MGT Nelson et Amina exhibent les taux les moins performants de germination.

2.2.2 L'influence du stress salin sur la productivité des différents géotypes parentaux :

Tableau 5 : ANOVA à deux facteurs de l'effet du stress salin sur la productivité.

Source de variation	N° de gousses		N° de graines		Poids total	
	<i>df</i>	F	F	F	F	F
Géotypes (G)	5	2.12**	4.09**	3.75**		
Traitements (T)	3	26.34**	37.44**	41.84**		
Interaction (GxT)	15	1.79*	2.53**	2.2**		
À l'intérieur du groupe	96					

*, ** test significatif à 0.05 et 0.01 respectivement.

Tableau 6 : Performances moyennes des géotypes parentaux sous différents niveaux de salinité.

Géotypes	N° de gousses				
	Traitements	0mM	25mM	50mM	150mM
Sunray		31.4a	14.6a	8.4a	0.8a
Coco nain		11.6b	12.6a	16a	6.8a
MGT		29ab	27.2a	20.4a	1.6a
Amina		31.4a	28.4a	15.6a	1a
MGT Nelson		28.4ab	16.8a	12.6a	0a
Améliore R		15ab	20.8a	9.4a	6.8a
Tukey's HSD test		18.42			
		Poids total			
		0mM	25mM	50mM	150mM
Sunray		24.06a	4.91a	1.954a	0a
Coco nain		16.52a	20.10b	15.74b	4.71a
MGT		24.73a	16.89ab	9.74ab	0.07a
Amina		19.88a	17.70cb	6.24ab	0.082a
MGT Nelson		17.80a	6.84ac	1.44a	0a
Améliore R		13.76a	20.06db	8.92ab	1.41a
Tukey's HSD test		12.54			
		N° de graines			
		0mM	25mM	50mM	150mM
Sunray		114.6a	46.4a	13a	0.2a
Coco nain		45.8b	46a	47.4a	14a
MGT		117a	98a	63.2a	0a
Amina		98.4ab	104.8a	47a	0a
MGT Nelson		99.6ab	53.4a	17.2a	0a
Améliore R		33.2cb	63.2a	27.4a	8a
Tukey's HSD test		59.22			

Valeurs dans la même colonne suivie par les mêmes lettres ne diffèrent pas de manière significative (Tukey's HSD test, $P < 0.05$).

Les résultats de l'ANOVA à deux facteurs avec répétitions des données sont présentés dans le tableau 5, ces résultats ont montré une différence très significative (p -value < 0.01), entre les génotypes en interaction avec le traitement salin pour le nombre de graines et le poids total, indiquant la haute importance de ces traits pour la sélection, avec une moindre mesure pour le nombre de gousses.

L'augmentation du stress salin a eu un effet négatif sur la productivité comme il est démontré dans le tableau 6, pour tous les génotypes parentaux, en comparant avec le contrôle, la productivité été relativement maintenu sous le traitement de 25mM NaCl, alors que sous le traitement 50mM la productivité a drastiquement chuté. À 150mM la productivité été nul pour tous les génotypes parentaux sauf Améliore roza et Coco nain. Les génotypes parentaux Sunray, MGT, MGT Nelson ainsi que Amina montrent une plus grande susceptibilité à la salinité. Le traitement 150mM NaCl a été létal pour presque tous les plants, seuls quelques plants d'Améliore roza et de Coco nain ont subsisté.

Pour le nombre des gousses (figure 11), les génotypes parentaux Sunray, Amina, MGT et MGT Nelson ont enregistré une diminution avec l'augmentation des traitements salins, alors que pour le parent Coco nain le nombre de gousse s'accroît avec l'augmentation du stress salin ; quant au génotype parental Améliore roza le nombre de gousse été supérieur sous 25mM NaCl par rapport aux autres traitements. Les parents MGT Nelson et Sunray ont enregistré les plus basses valeurs avec 0 et 0.8 respectivement sous 150mM NaCl, alors que Coco nain et MGT ont enregistré les plus hautes valeurs sous 50 mM NaCl avec 16 et 20.40 gousses respectivement.

En réponse au stress salin le nombre des graines a augmenté pour les parents Coco nain, Amina et Améliore roza sous des conditions salines faibles et modérées (figure 12), alors que pour les parents Sunray, MGT et MGT Nelson le nombre des graines a diminué avec l'augmentation du stress salin. Dans des conditions de stress extrêmes (150mM NaCl) les quatre parents Sunray, MGT, Amina ainsi que MGT Nelson ont enregistré des valeurs nulles. Seuls les génotypes Coco nain et Améliore roza ont enregistré des valeurs positives avec 14 et 8 graines respectivement ; et même si le nombre des graines augmente sous stress salin modéré, pour les génotypes parentaux Amina et MGT, ils restent de taille très petites (on peut le voir clairement en comparant le nombre des graines avec le poids total) et en grande majorité non-viables, quant au parent Améliore roza la totalité de ses graines produites sont viables.

Le poids total des gousses et des graines sont représentés dans la figure 13. Tous les génotypes parentaux ont été affectés par le stress salin le poids total a diminué avec l'augmentation des traitements salins sauf pour le traitement 25mM NaCl où les deux parents Coco nain et Améliore roza ont vu une augmentation du poids total.

La comparaison des génotypes parentaux selon le Tukey's HSD test (Tableau 6) prend deux considérations : selon les traitements et les traits étudiés ; la différence entre les génotypes parentaux est perceptible au niveau des concentrations 25mM et 50mM d'NaCl pour le poids total, alors que pour le traitement non salin la différence est enregistrée pour le nombre des gousses et le nombre des graines, pour la concentration de 150mM NaCl et même s'il y a une différence de production cette différence n'est pas significative entre les génotypes pour tous les traits sous études.

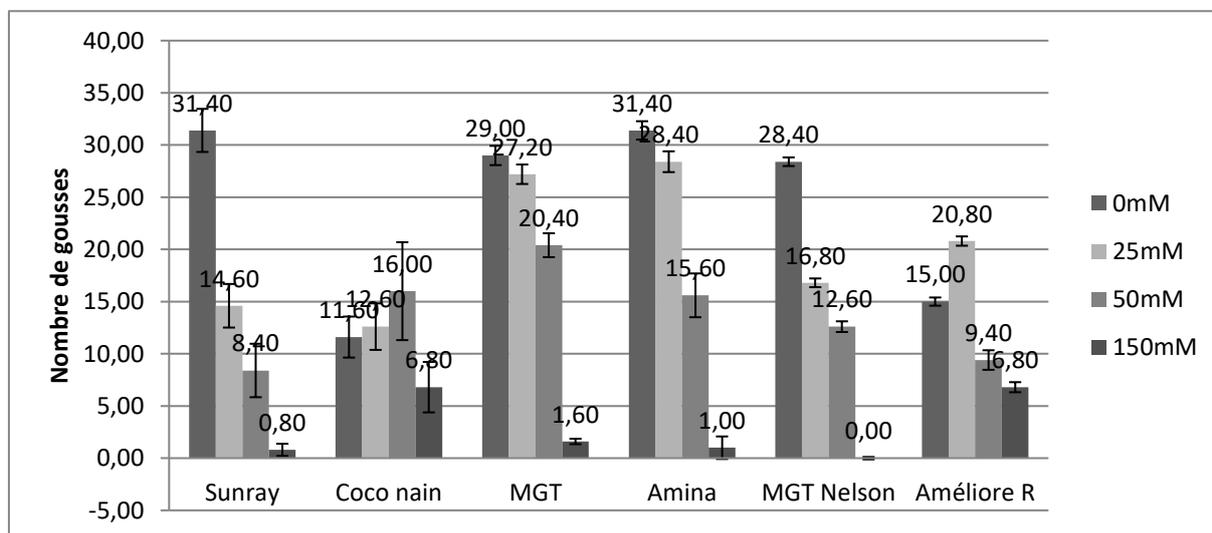


Figure 11 : Nombre des gousses des différents génotypes sous stress salin. Les résultats sont des moyennes \pm S.E (n = 5 répétitions).

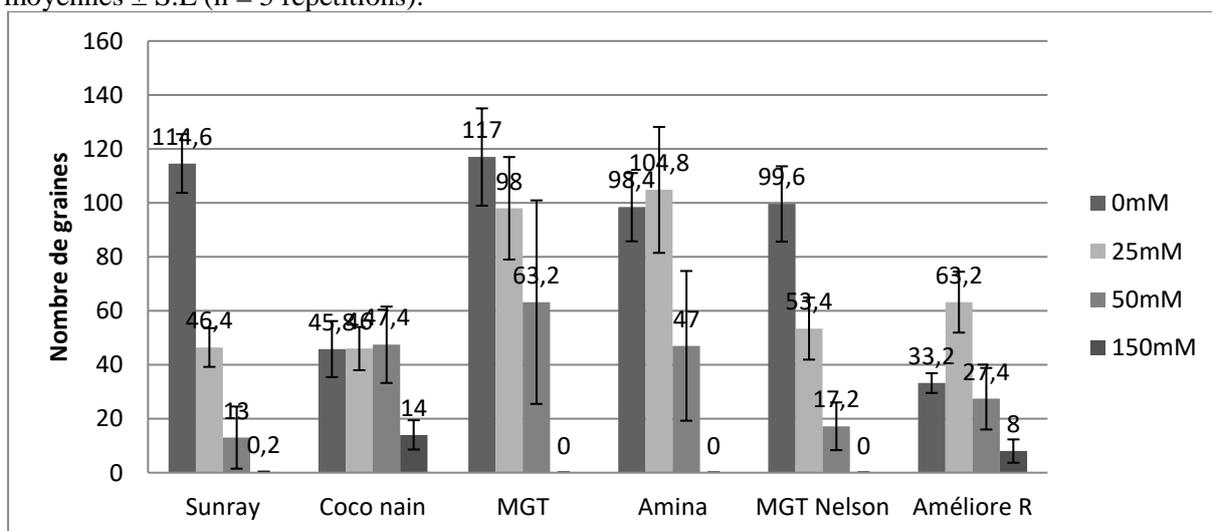


Figure 12 : Nombre de graines des différents génotypes sous stress salin. Les résultats sont des moyennes \pm S.E (n = 5 répétitions).

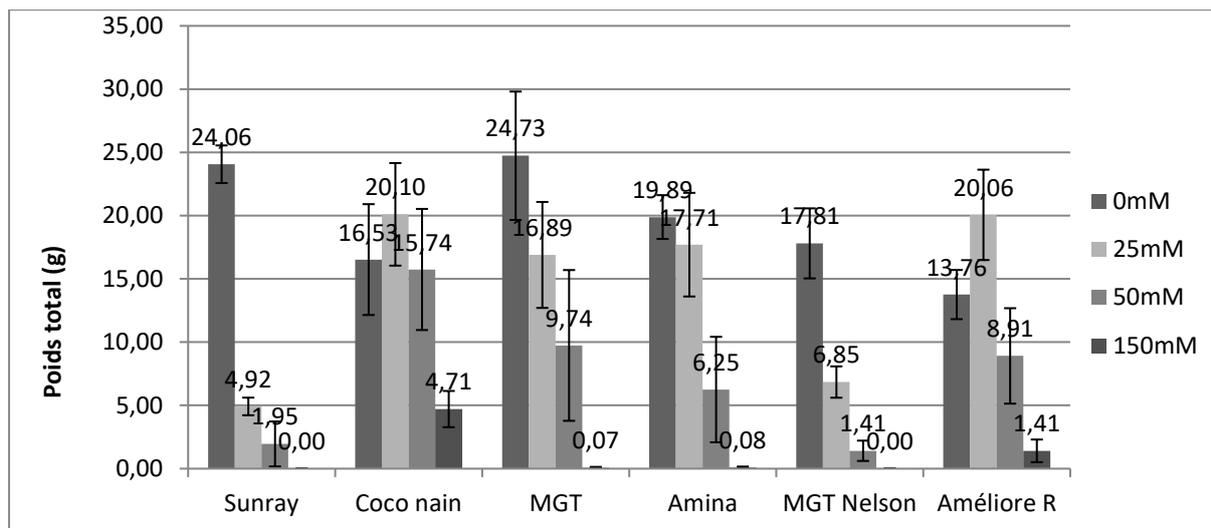


Figure 13 : Poids total (gousses et graines) des différents génotypes sous stress salin. Les résultats sont des moyennes \pm S.E (n = 5 répétitions).

2.3 Interprétation :

La salinité affecte toutes les parties de la plante durant son cycle de vie (Khan and Panda, 2008), et la capacité des plantes à tolérer le stress salin varie selon le stade de développement de ces dernières (Khan *et al.* 2002), atteindre le stade de fructification est un important signe de tolérance. Au cours d'une exposition à long terme à la salinité, les plantes subissent un stress ionique qui peut conduire à une sénescence prématurée des feuilles adultes, et donc une réduction de la surface photosynthétique indispensable pour soutenir la croissance continue de la plante (Cramer and Nowak, 1992). Les résultats montrent que tous les paramètres mesurés ont diminué avec l'augmentation de la salinité, ainsi que la productivité, les génotypes parentaux Sunray, MGT, MGT Nelson ainsi qu'Amina ont montré une plus grande sensibilité à la salinité par rapport aux deux génotypes parentaux Améliore roza et Coco nain, plusieurs mécanismes physiologiques et biochimiques sont utilisés par les plantes pour contrer le stress salin (Taïbi *et al.*, 2016), les génotypes parentaux Améliore roza et Coco nain ont augmenté leur production de graine et de gousse avec l'augmentation de la salinité, ce qui est un fort indicateur de tolérance et donc de présence de potentiels génétiques pour une amélioration de la productivité en milieu salin, tandis-que les parents Sunray et Amina ont atteint la production des gousses dans des conditions salines sans toutefois produire des graines viables ; ces résultats expliquent la différence non significative selon le Tuckey's HSD test, entre les génotypes parentaux pour le nombre des gousses et le nombre des graines ; alors que pour le poids total ces différences sont hautement significatives.

Läuchli, (1984) a indiqué que le haricot voit sa production drastiquement diminuée à des taux supérieurs à 2 dS m⁻¹ soit 20 mM NaCl, ces résultats confirment ceux de notre recherche et pour cause à des taux de 150mM NaCl, la majorité des plantes sont mortes avant même d'avoir atteint le stade de fructification, seules quelques plantes des génotypes parentaux Améliore roza et Coco nain ont pu produire des graines viables ; et donc pour la suite de notre étude, continuer à utiliser cette concentration entravera nos résultats et l'utilisation de la concentration de 100mM NaCl sera plus adéquate. La suppression de la concentration de 25mM NaCl n'affectera pas notre étude, les résultats de cette concentration ne diffèrent pas beaucoup de celle du contrôle, une étude sur le haricot a été déjà conduite avec de telles concentrations (Gama et al., 2007), alors que le taux de salinité était beaucoup plus bas dans d'autres études (Khadri et al., 2007 ; Cokkizgin, 2012 ; Kontopoulou et al., 2015; Bargaz et al., 2016).

Les génotypes parentaux présentant des enveloppes de graines blanches ont été hautement sensibles à la salinité, tandis-que les parents ayant des rayures dans leurs enveloppes ont démontré de grande capacité à tolérer le stress salin, les génotypes parentaux présentant des couleurs brunes à brunes foncées ont montré aussi une susceptibilité au stress salin. La couleur de l'enveloppe des graines est indicatrice de la présence de composés phénoliques, indispensable pour la tolérance aux différents stressés biotiques et abiotiques (Ganesan and Xu, 2017; Taïbi et al., 2016) ; néanmoins, les parents Sunray et MGT ayant des couleurs brunes et brunes foncées ont été hautement sensibles au stress salin.

Pour la suite de notre recherche est notamment l'étude de l'analyse diallèle et génétique à l'aide de marqueurs génétiques, il faut impérativement qu'il y ait différence (selon le but de la recherche, dans notre étude ce sont la tolérance au stress salin et la productivité des métabolites secondaires) entre les génotypes parentaux pour procéder aux croisements. Les génotypes parentaux Améliore roza et Coco nain présentent une certaine tolérance au stress salin, de plus leurs enveloppes de graines présentent des rayures de couleur brune à rouge indicatrice de présence de polyphénols, alors que les parents Amina et MGT sont hautement sensibles à la salinité présentant des phénotypes de couleur blanche et brune foncée respectivement. Les génotypes parentaux MGT Nelson et Sunray ont été eux aussi hautement sensibles à la salinité et avec la même couleur des graines, blanche pour MGT et brune pour Sunray, faire des croisements avec des génotypes présentant la même réponse à la salinité et présentant le même phénotype ne sont pas souhaitables. Des résultats obtenus, les génotypes parentaux Améliore roza, Coco nain, MGT et Amina ont été choisis.

3. Le croisement demi-diallèle :

3.1 La préparation des génotypes parentaux :

Les quatre génotypes parentaux sélectionnés à savoir : Coco nain ; MGT ; Amina et Améliore roza ont été plantés durant la saison estivale de 2015, dans une pépinière privée près de Aïn Smara. Vingt plants de chaque génotype ont été plantés à une distance de 75cm pour éviter toute fécondation accidentelle entre les différentes variétés (même si cela est très peu probable), l'irrigation a été effectuée d'une façon continue et régulière (une fois tous les trois jours), toutes les procédures de désherbage, d'ajout d'engrais et de protection contre les insectes (notamment la lutte biologique en utilisant des coccinelles *Coccinella septempunctata* contre les pucerons de la super-famille des Aphidoidea) ont été faites pour garder les plantes saines et productives. À la floraison les croisements sont procédés selon le modèle demi-diallèle.

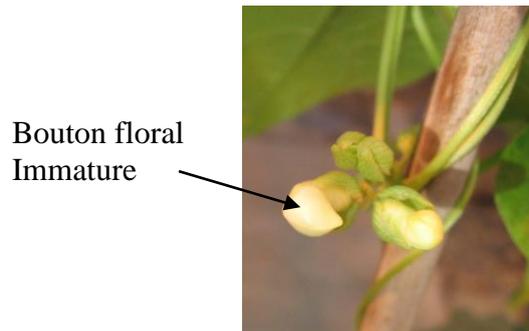
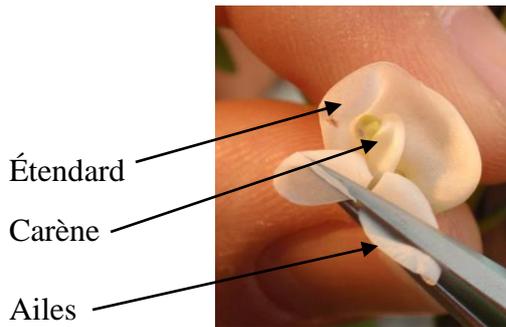
3.1.1 Le choix des fleurs mâles et femelles :

Les étapes de la pollinisation artificielle croisées du haricot sont présentées dans la figure 14.

L'étape initiale consiste à la préparation de la fleur femelle. La fleur de l'haricot commun est bisexuelle. Les fleurs qui devraient ouvrir le jour suivant sont choisies sur la plante qui sera le parent femelle.

Les fleurs sélectionnées sont celles où les bourgeons floraux sont enflés et pas encore ouverts. Le haricot a typiquement de 3 à 15 boutons floraux à l'aisselle des tiges foliaires ou à l'extrémité des tiges terminales selon les différentes variétés.

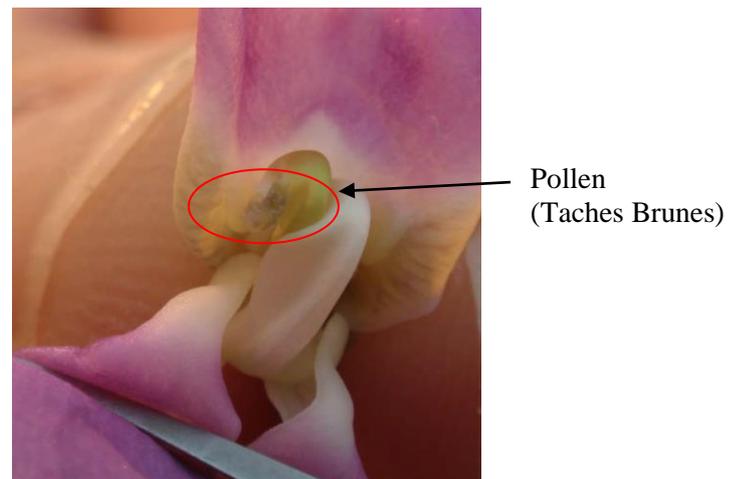
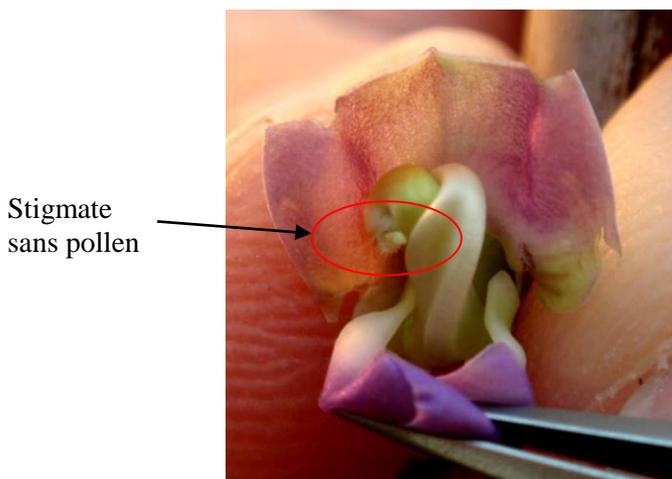
Habituellement, une à trois fleurs des aisselles ont été choisies comme femelles. Des précautions doivent être prises pour assurer l'enlèvement, à l'aide d'une pince, de tous les autres boutons floraux, y compris les bourgeons immatures. Ces bourgeons immatures pourraient se développer en fleurs à une date ultérieure et rendre l'identification de la fleur pollinisée difficile, voire impossible. Même en présence d'étiquette (figure 14). Les fleurs qui se sont ouvertes le jour même sont choisies pour être les fleurs mâles.



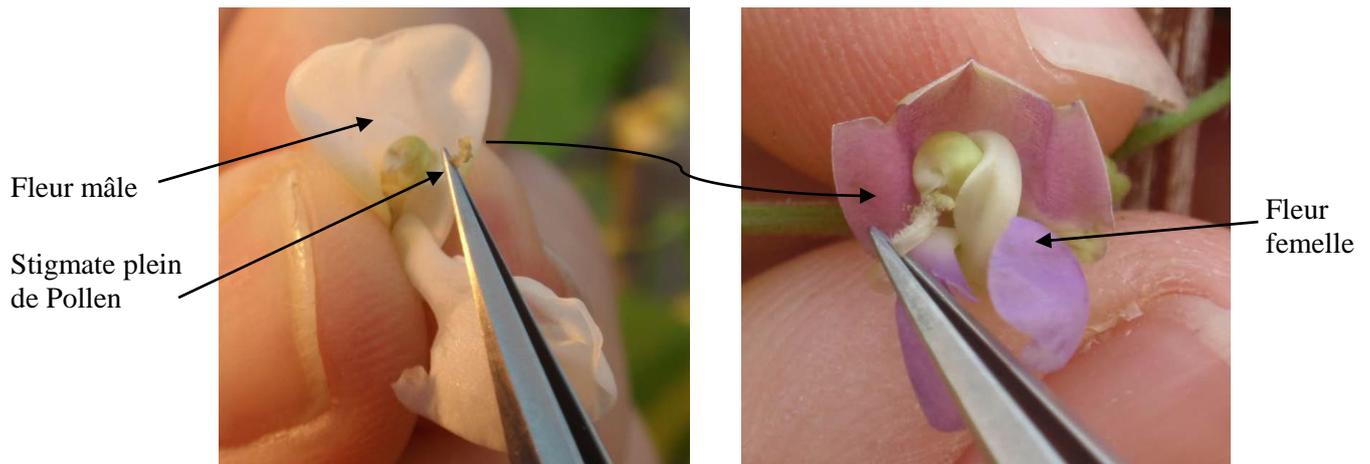
- Le stigmate et les étamines sont contenus dans la carène.
- À l'anthèse, les anthères déhiscentes libèrent le pollen, et la fleur est auto-pollinisée.

- Les boutons floraux qui s'ouvriront dans un ou deux jours sont sélectionnés sur le pied femelle.
- Une fois que la fleur commence à s'ouvrir, l'autopollinisation a probablement eu lieu.

- Les fleurs qui se sont ouvertes sont choisies parmi les parents mâles.
- Lorsque le bouton floral s'ouvre les anthères libèrent le pollen, en passant devant le stigmate qui collecte le pollen.



- Avec une pince, nous ouvrons le bourgeon du parent femelle. En poussant délicatement les ailes, le stigmate sort de la carène. Le stigmate ne doit pas contenir du pollen pour le parent femelle, alors qu'il doit en contenir pour le parent mâle.



- À l'aide d'une pince le stigmate de la fleur ouverte est enlevé. Le stigmate est utilisé pour transférer le pollen au stigmate du bourgeon pollinisé.
- Le stigmate porteur de pollen est frotté sur le stigmate sans pollen du bourgeon pollinisé. Ensuite le stigmate portant le pollen est crocheté sur le stigmate du bourgeon pollinisé. Le stigmate transféré est laissé sur le stigmate de la fleur pollinisée.



- L'étape la plus importante consiste à étiqueter la fleur pollinisée. Les petites étiquettes de bijoux sont un bon choix car elles sont petites et dureront jusqu'à ce que la gousse soit mûre et récoltée. On Utilise un crayon ou un marqueur indélébile. Au minimum, l'étiquette doit contenir le nom des parents ou d'autres identifications.

Figure 14 : Pollinisation croisée du haricot commun.

3.1.2 La préparation des fleurs mâles et femelles :

À l'aide d'une pince on écarte l'étendard de la fleur et on libère la carène et les ailes, la carène est alors ouverte et les étamines pas encore matures sont enlevées, il faut s'assurer que les stigmates sont dépourvus de pollen qui se caractérise par une couleur brunâtre sur ce dernier (figure 14), la fleur est alors émasculée, et prête à recevoir le pollen du parent mâle en vue du croisement. Le pollen est récolté par le stigmate de la fleur mâle, en poussant délicatement les ailes de la fleur déjà ouverte le stigmate passe par les anthères et récolte le pollen, des taches brunes sont visibles sur le stigmate indiquant la présence de pollen (figure 14), si les taches ne sont pas visibles, une autre fleur doit être choisie.

3.1.3 La pollinisation :

Une fois la fleur femelle préparée, elle doit être pollinisée le plus tôt possible. Le stigmate exposé restera viable pendant plusieurs heures. À l'aide d'une pince le stigmate de la fleur mâle contenant du pollen est délicatement brossé sur le stigmate exposé de la plante femelle. Une fois la pollinisation terminée, l'étiquette, comme décrit précédemment, est crochétée à la plante femelle pour identifier l'emplacement de la fleur pollinisée (figure 14). Le croisement a été fait selon la méthode demi-diallèle, tableau 7.

Tableau 7 : Croisement en demi-diallèle entre les différents génotypes.

♀ \ ♂	Coco Nain	MGT	Amina	Améliore R.
Coco Nain	-	-	-	-
MGT	X	-	-	-
Amina	X	X	-	-
Améliore R.	X	X	X	-

X, représente le croisement entre deux parents (Hybride).

3.2 Résultats et discussion :

Les fleurs de la population F_1 peuvent être indicatrices de la réussite du croisement, en effet dans notre cas les gènes contrôlant la couleur des fleurs sont co-dominants à récessifs ils nous permettent de voir clairement la réussite des croisements ; néanmoins l'utilisation des marqueurs génétiques est nécessaire pour éliminer tous les doutes. La figure 15 nous montre la différence phénotypique des fleurs entre les parents et leurs hybrides. On remarque que les parents MGT et Amina ont des fleurs blanches et que les hybrides issus de leur croisement ont eux aussi des fleurs blanches, alors que les croisements entre les parents MGT, Amina d'un côté et de Coco nain et Améliore roza (fleurs avec les ailes et l'étendard de couleur pourpre) ont tous des hybrides présentant des nuances de pourpre clair par rapport à leurs parents respectifs.

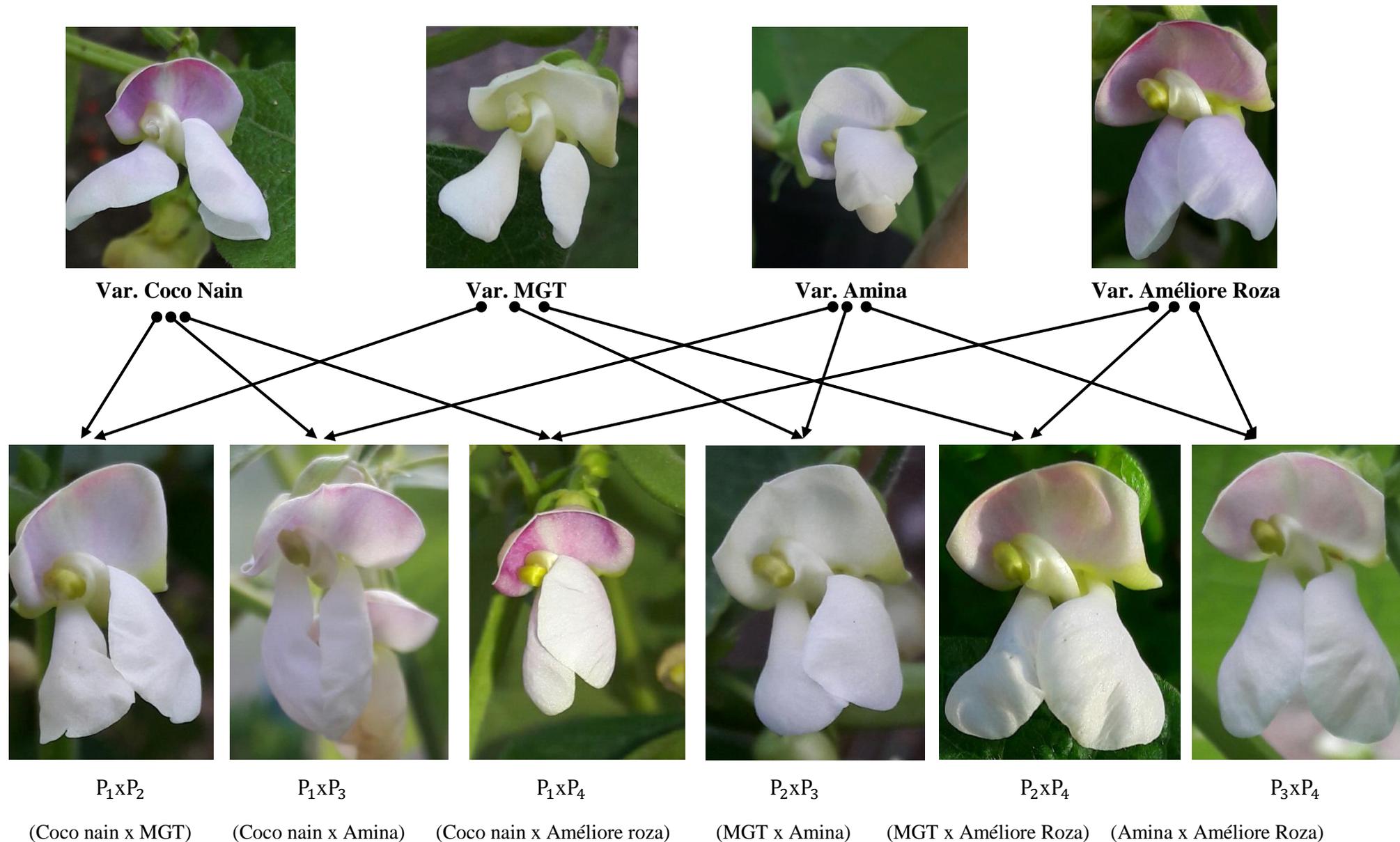


Figure 15 : Différences phénotypiques des fleurs entre les parents et leurs hybrides.

La quantité des graines produite des croisements était très limité en effet seulement 37% des fleurs fécondées ont donné des gousses F_1 ; ceci peut-être expliqué par de mauvaises manœuvres, des incompatibilités entre les différents génotypes parentaux et le plus probable les conditions environnementales, en effet durant le croisement, la région de Constantine et de ses environs ont essuyé de grande chaleur réduisant ainsi la production des fleurs et leur fécondité. Cependant les croisements ont permis d'avoir assez de graines pour pouvoir continuer notre étude.

Six hybrides F_1 ont été produits : $P_1 \times P_2$ (Coco nain x MGT) ; $P_1 \times P_3$ (Coco nain x Amina) ; $P_1 \times P_4$ (Coco nain x Améliore roza) ; $P_2 \times P_3$ (MGT x Amina) ; $P_2 \times P_4$ (MGT x Améliore Roza) ; $P_3 \times P_4$ (Amina x Améliore Roza) (Tableau 7).

Les hybrides F_1 ont été plantés pour produire les hybrides de la population F_2 durant la seconde période de la même saison.

4. Conclusion :

L'effet du stress salin a démontré une grande variabilité quant à la tolérance au stress salin entre les génotypes de *P. vulgaris* étudiés, et donc les hybrides issus des croisements entre ces différents génotypes parentaux sont très prometteurs pour l'étude génétique. Après un croisement réussi, nous disposons à ce stade de notre étude de six hybrides F_1 et de six hybrides F_2 , avec leurs parents respectifs, ils forment six populations, c'est le matériel génétique pour l'évaluation phytochimique, physiologique et phénologique de la population sous stress salin. Les traitements salins ont été revus suite à nos résultats de la productivité des différents génotypes de *P. vulgaris* : contrôle (eau non-salinisée) ; 50mM et 100mM d'NaCl seront appliqués pour la suite de notre étude.

Chapitre 3

**Évaluation, analyse diallèle,
hétérosis et héritabilité des traits
phénologiques, physiologiques et
phytochimiques de la population
sous stress salin.**

1. Introduction :

Lorsque la plante est exposée au stress, tous les processus majeurs tels que la photosynthèse, la synthèse des protéines et le métabolisme énergétique et lipidique sont affectés (Parida and Das, 2005). Au cours de l'exposition initiale à la salinité, les plantes subissent un stress hydrique et une forte toxicité du sodium (Na^+), entraînant une inhibition de l'expansion et de la division cellulaire, ainsi qu'une fermeture stomatique (Flowers, 2004 ; Munns, 2002 ; Cramer and Nowak, 1992). La salinité cause aussi un stress oxydatif et induit à la production d'espèces réactives de l'oxygène, qui sont nuisibles à toutes les classes de biomolécules. La principale réponse défensive de la plante au stress oxydatif est la biosynthèse des molécules antioxydantes (Taïbi et al., 2016). De nombreuses plantes s'adaptent au stress salin en augmentant la biosynthèse des métabolites secondaires, la présence de ces métabolites augmente considérablement la qualité nutritive des plantes (Ashraf and Harris, 2004).

L'analyse génétique entre individus et populations est très importante dans les programmes de sélection impliquant l'hybridation ou le croisement diallèle, car il est plus facile d'identifier les parents qui produisent des descendants hétérotiques et d'augmenter la probabilité d'obtenir des génotypes supérieurs dans les générations isolées (Benitez et al. 2011). Falconer and Mackay (1996) ont déclaré que l'hétérosis des hybrides est causée par des effets non additifs du trait impliqué et par le carré de la différence des fréquences alléliques avec leurs parents, où les effets épistatiques sont généralement négligés. En outre, une inférence peut être faite à partir des croisements diallèles calculant les aptitudes générales et spécifiques à la combinaison des parents et des hybrides, respectivement (Hayman, 1954 ; Griffing, 1956). D'autre part, les estimations de l'héritabilité fournissent des données précieuses sur l'importance relative des composants génétiques et peuvent prédire le progrès génétique attendu sous une population ségrégant (Ghareeb and Helal, 2014).

Notre but dans ce chapitre est d'évaluer la population (Parents, F_1) pour les caractéristiques phytochimiques, physiologiques et phénologiques dans des conditions salines, et d'étudier la nature de l'action des gènes influençant ces derniers. Les aptitudes générales et spécifiques à la combinaison, l'hétérosis et l'héritabilité des caractères étudiés ont été évaluées afin de mieux caractériser la réponse du haricot commun sous stress salin et d'identifier les facteurs limitatifs de la croissance; utiles pour développer des stratégies de sélection qui permettent d'améliorer à la fois la productivité et la qualité nutritive du haricot commun sous conditions salines.

2. L'évaluation phénologique, physiologique et phytochimique de la population :

2.1 La conception expérimentale :

Une expérience basée sur un plan factoriel est réalisée en une conception de bloc aléatoire complet avec dix génotypes (quatre génotypes parentaux et leur six hybrides F₁), traités avec trois niveaux de salinité (S0 : contrôle ; S1 : 50mM NaCl et S2 : 100mM NaCl), tous les génotypes ont fait l'objet de trois répétitions, ramenant à 90 unités expérimentales l'ensemble des individus étudiés.

2.2 Mode de culture et conditions de croissance :

Les graines des hybrides F₁ et leurs parents ont d'abord été stérilisés par immersion dans de l'hypochlorite de sodium commercial NaClO à 5% (v/v), puis rincés trois fois avec de l'eau distillée et germés dans un milieu de culture humide à 25,5 ° C pendant 72 heures à la greenhouse pole, de la Tennessee State University, USA. Les plantules ont été transférées dans des pots (24x21,8 cm) remplis de milieu de culture (75% de tourbe, vermiculite, perlite, calcaire, et un agent mouillant) et cultivées dans une chambre de croissance dans des conditions environnementales contrôlées (image 3). Les conditions maintenues pendant l'expérience étaient: durée de la lumière -14 h, température -27 ± 2°C et humidité relative de l'air - 65 ± 5%. Un engrais commercial (Scotts Miracle-Gro product, N: P: K (24: 8: 16), 0,7 kg m⁻³) a été utilisé pendant toutes les expériences. Toutes les conditions ont été maintenues jusqu'à la fin du cycle de vie des individus (120 jours).



Image 3 : Dispositif des différents génotypes sous serre (greenhouse pole, de la Tennessee State University, USA). A : Vue d'ensemble. B : Vue d'une parcelle.

2.3 Les traitements salins et le régime hydrique :

Les traitements salins ont été appliqués graduellement pour éviter le choc osmotique en ajoutant 25 mM d'NaCl à l'apparition de la première feuille trifoliée, tous les quatre jours jusqu'à atteindre les concentrations désirées, une irrigation avec de l'eau non salinisée a été appliquée après chaque deux traitements salins pour éviter l'accumulation des sels et dépasser ainsi le taux de salinité désiré pour chaque traitement. Le traitement témoin (S0) a été irrigué uniquement avec de l'eau. Le pH et la conductivité électrique (EC) (dS m^{-1}) ont été mesurés pour le milieu de culture et pour l'eau d'irrigation pendant l'expérience et maintenus aux niveaux désirés (pH = 5,5 à 6,5; EC <2 dS m^{-1} ; EC = 5 dS m^{-1} et EC = 10 dS m^{-1} pour 0, 50 et 100 mM d'NaCl respectivement).

2.4 Mesures des traits étudiés :

2.4.1 Les traits phénologiques et physiologiques :

Les jours jusqu'à maturité verte et maturité sèche ; la surface foliaire, en utilisant un appareil de mesure de la surface foliaire (analyseur de surface portable LI-3000C, LI-COR Biosciences) (cm^2) (Image 4); poids des tiges (g); poids de la racine (g); le poids des graines (g) et la biomasse totale (g) ont été enregistrés.



Image 4 : Analyseur de surface portable LI-3000C, LI-COR Biosciences.

2.4.2 Les traits phytochimiques :

2.4.2.1 La préparation des graines :

Les graines séchées ont été broyées en fine poudre grâce à un broyeur (Wiley Laboratory Mill, Model 4 3375–E10), image 5 (taille des particules environ 40 μ m), la finesse de la poudre conditionnant la qualité de l'extraction ultérieure.



Image 5: Broyeur Wiley Laboratory Mill, Model 4 3375–E10. Nashville, USA.

2.4.2.2 L'extraction éthanolique :

Un échantillon de 0.5 g des graines broyées de chaque génotype a été extrait avec 45 ml d'éthanol à 70% et ajusté à un pH de 2.0 avec de l'acide formique; la mixture est laissée pour une nuit à température ambiante. Après avoir récupéré les extraits, ces derniers ont été dégraissés trois fois en utilisant 15 ml d'éther de pétrole. Les extraits ont été évaporés à sec sous vide à température ambiante puis dissous dans de l'EtOH/H₂O (70:30) et ajustés à un pH de 2.0 avec de l'acide formique, jusqu'à un volume final de 1 ml (Heimler et al., 2005). Toutes les données sont des valeurs moyennes de trois répétitions, schéma 4.

2.4.2.3 Le dosage des polyphénols totaux :

La méthode de Folin-Ciocalteu a été utilisée pour déterminer la teneur totale en composés phénoliques, décrite par Heimler et al. (2005). 0.5 ml d'eau distillée et 125 μ l du réactif de Folin-Ciocalteu ont été ajoutés à 125 μ l de l'extrait d'échantillons. Le mélange a été laissé au repos pendant 6 minutes, puis 1.25 ml d'une solution aqueuse à 7% d'Na₂CO₃ a été ajoutée, le mélange est alors ajusté avec de l'eau distillée à 3 ml comme volume final. Le mélange a été laissé au repos pendant 90 minutes, et l'absorption a été mesurée à 760 nm contre de l'eau en tant que blanc, schéma 5.

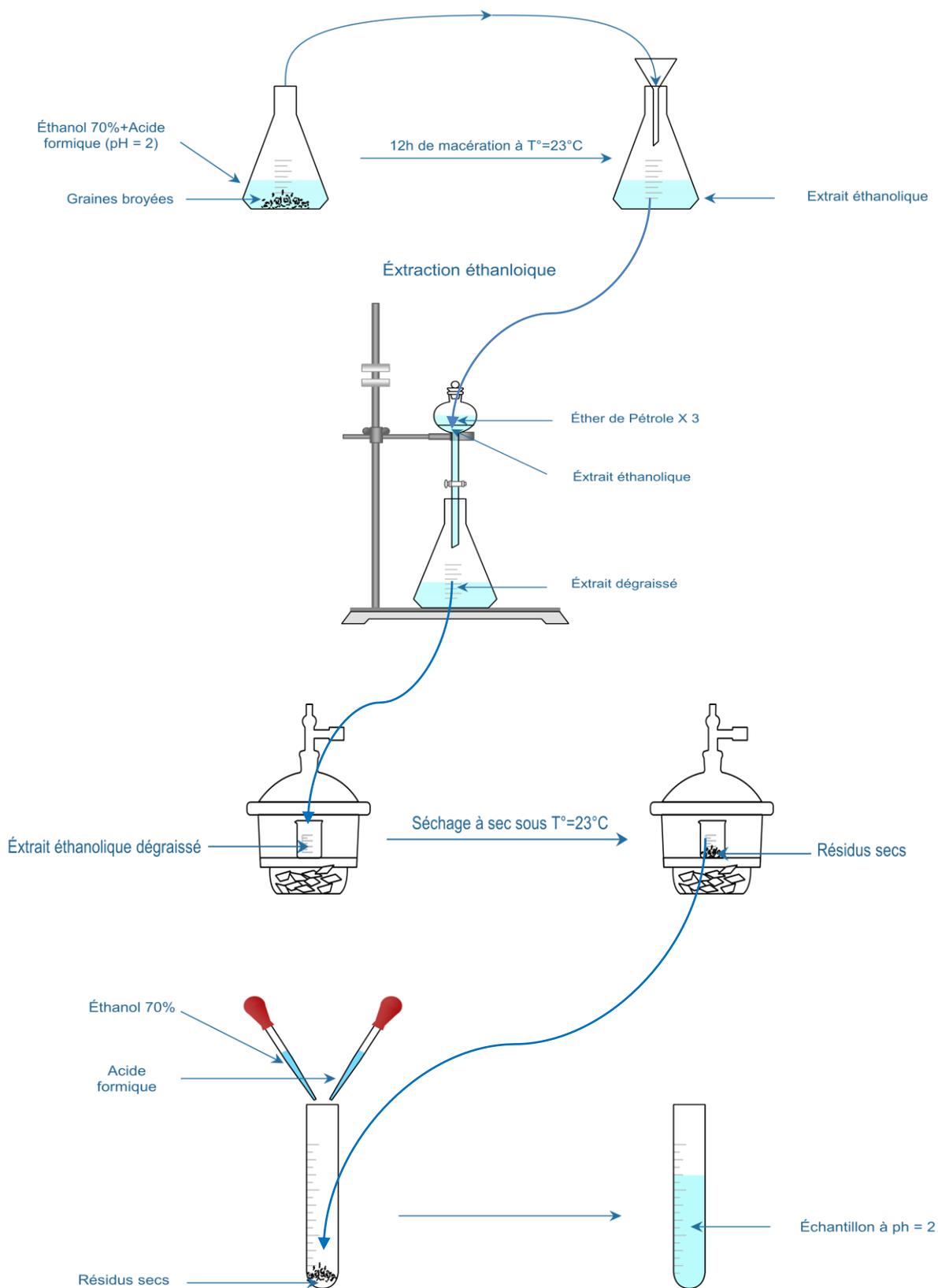


Schéma 4 : Préparation des extraits éthanoloiques.

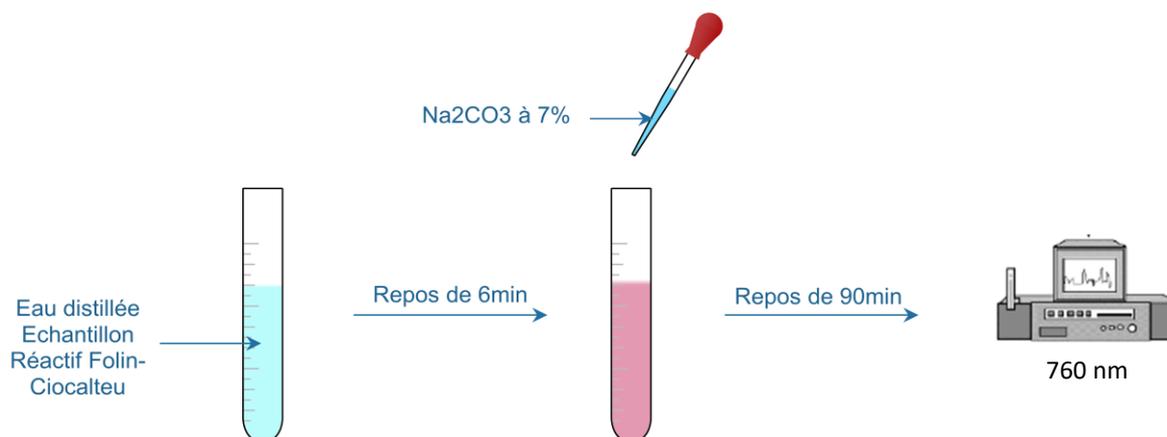


Schéma 5 : Dosage des polyphénols.

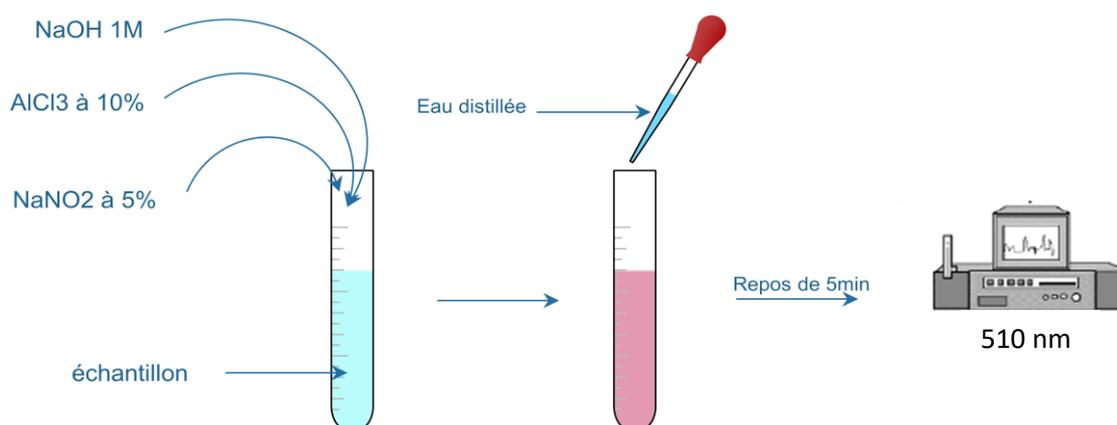


Schéma 6 : Dosage des flavonoïdes.

2.4.2.4 La courbe d'étalonnage de l'acide gallique :

Le test de Folin-Ciocalteu, avec quelques modifications, a été adopté pour déterminer les polyphénols totaux des échantillons. Les meilleures conditions colorées étaient: 0.3 ml de solution de Folin-Ciocalteu, 2 ml de solution de Na_2CO_3 à 7%, une température de réaction de 30°C et une durée de réaction de 90 minutes.

29,42 mg d'acide gallique a été pesé avec précision et dissous dans de l'eau distillée dans des fioles jaugées de 100 mL. 0 ; 0.05 ; 0.1 ; 0.15 ; 0.2 ; 0.25 et 0.3 ml de solution d'acide gallique a été prélevée et placée dans des flacons volumétriques de 10 ml séparément, traités avec les conditions précédentes et ajustés à 10 ml avec de l'eau distillée. L'absorbance a été mesurée à 760 nm de la solution réactionnelle et soustraite du blanc réactif. L'équation de régression linéaire a été calculée, avec des concentrations d'échantillon en tant qu'axe des X et

l'absorbance à 760 nm de la solution réactionnelle en tant qu'axe des Y. À partir de la figure 16, une bonne relation a été observée entre les concentrations de l'échantillon et l'absorbance à 760 nm de la solution réactionnelle. L'absorbance à 760 nm de la solution d'échantillon a été testée après le traitement par la solution d'acide gallique (Heimler et al., 2005 ; Mag et al., 2012). La quantité des polyphénols totaux est calculée comme l'équivalent d'acide gallique de la courbe d'étalonnage :

$$y = 0.1021x + 0.0835, (R^2 = 0.9979).$$

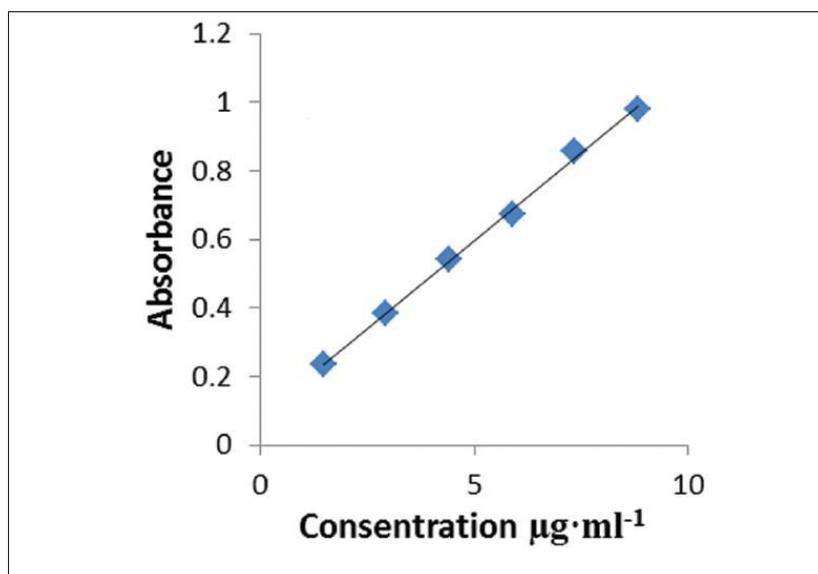


Figure 16 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

2.4.2.5 Le dosage des flavonoïdes totaux :

La méthode colorimétrique décrite par Heimler et al. (2005) a été utilisée pour déterminer la teneur totale en flavonoïdes. 75 µl d'une solution d'NaNO₂ à 5%, 0.150 ml de solution d'AlCl₃ à 10% fraîchement préparée et 0.5 ml de solution de 1M d'NaOH ont été ajoutés à 0.25 ml de l'extrait d'échantillons. Le volume final a été ajusté à 2.5 ml avec de l'eau distillée. Le mélange a été laissé au repos pendant 5 minutes et l'absorption a été mesurée à 510 nm par rapport au même mélange, sans l'échantillon, comme blanc. La quantité de flavonoïdes totaux est exprimée en équivalents (+) - catéchine (CE, mg (+) - catéchine / g échantillon) à travers la courbe d'étalonnage de la (+) - catéchine, schéma 6.

2.4.2.6 La courbe d'étalonnage des Catéchines :

1g de (+)-Catéchine de poids constant est pesée avec précision et placée dans une fiole jaugée de 100 mL, puis dissoute dans l'eau et diluée à 100 mL. Une quantité exacte est

prélevée de la solution comme suite : 0, 0.1, 0.4, 0.7, 1 et 1.3 ml, puis mise dans des fioles jaugées de 10 ml et diluée à 10 ml avec la solution de référence. L'absorption a été mesurée à 510 nm par rapport au même mélange. L'équation de régression linéaire a été calculée, avec des concentrations d'échantillon en tant qu'axe des X et l'absorbance à 510 nm de la solution réactionnelle en tant qu'axe des Y. À partir de la figure 17, une bonne relation a été observée entre les concentrations de l'échantillon et l'absorbance à 510 nm de la solution réactionnelle. La quantité de flavonoïdes totaux est exprimée en équivalents de (+) - catéchine (CE, mg (+) - catéchine / g échantillon) à travers la courbe d'étalonnage de la (+) – catéchine, ($R^2 = 0,998$) :

$$y=1.427x+0.024, (R^2 = 0.998)$$

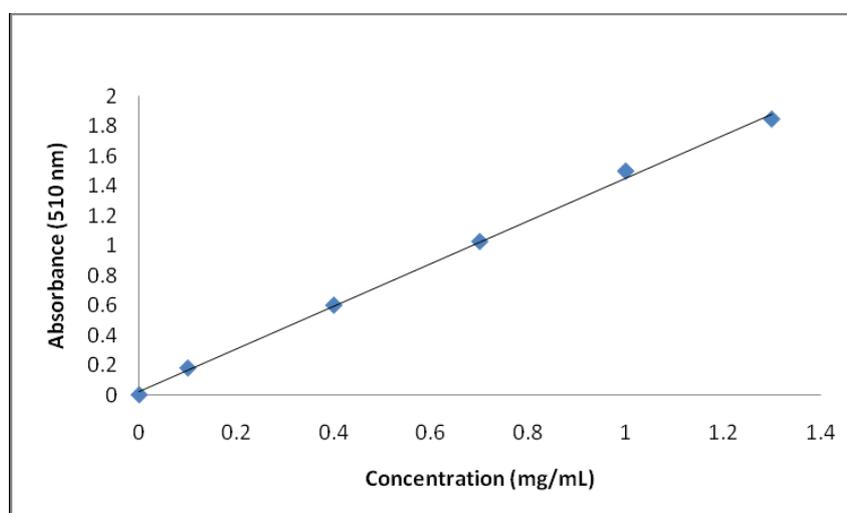


Figure 17 : Courbe d'étalonnage des catéchines.

2.5 L'analyse statistique :

Afin de définir et de mettre en évidence l'importance des paramètres analysés chez les hybrides et leurs parents ainsi que le facteur le plus performant vis-à-vis de la salinité et les différentes corrélations entre ces paramètres, une analyse en composantes principales (ACP) a été réalisée, suivie d'une ANOVA à deux facteurs ($P < 0.01$). Basée sur les résultats d'analyse de variance, la comparaison multiple de moyennes a été réalisée en utilisant le Tukey's HSD test, pour un intervalle de confiance de 95 %, afin de déterminer les variations significatives entre les différents traitements.

3. Analyses diallèle, hétérosis et héritabilité :

3.1 Méthodes :

Les résultats obtenus de l'évaluation phénologique, physiologique et phytochimique ont été soumis à l'analyse diallèle, et aux calculs des effets d'hétérosis et de l'héritabilité.

Les variances statistiques de l'aptitude générale et spécifique à la combinaison ainsi que leurs effets ont été calculés selon la méthode II de Griffing (croisements demi-diallèles, sans réciprocité) $n(n-1)/2$, modèle 1 (effet fixe). Les analyses diallèles ont été réalisées selon Griffing. (1956), et l'approche numérique adoptée par Sharma (2006).

Le *t-test* a été réalisé pour déterminer la signification de la déviation de la génération F_1 par rapport au parent moyen et au meilleur parent, pour la détermination de l'hétérosis (Wynne et al., 1970). L'héritabilité au sens large ($h_{b_s}^2\%$) et au sens étroit ($h_{n_s}^2\%$) ainsi que les paramètres génétiques ont été déterminés par la méthode de la composante de la variance (Breese, 1972):

$$h_{b_s}^2 = VG/VP*100$$

Où VG est la variance génétique et VP est la variance phénotypique.

$$h_{n_s}^2 = [0.5D / (0.5D + 0.25H + E)] * 100$$

Où: D, H et E sont les estimations de la dominance additive et des composantes environnementales de la variation, respectivement. Les ratios de variance GCA / SCA ont été calculés pour déterminer l'importance relative des effets de l'GCA et de l'SCA (Baker, 1978).

4. Résultats :

4.1 L'analyse descriptive des effets qualitatifs de la salinité sur les génotypes étudiés :

4.1.1 L'analyse descriptive au niveau de la matrice de corrélation :

Les coefficients de corrélation entre les traits étudiés sont illustrés dans le tableau 8.

Tableau 8 : La matrice de corrélation entre les variables étudiées dans des conditions salines.

Variabes	JMV	JMS	S.F	P.T	P.R	P.G	BT	PPH.T	F.T
JMV	1								
JMS	-0.136	1							
S.F	0.475	0.549	1						
P.T	0.256	0.626	0.865	1					
P.R	0.246	0.638	0.861	0.904	1				
P.G	0.250	0.706	0.881	0.947	0.910	1			
BT	0.259	0.661	0.888	0.990	0.947	0.974	1		
PPH.T	0.499	-0.385	0.104	0.132	0.045	0.043	0.095	1	
F.T	0.502	-0.410	0.099	0.101	0.041	0.016	0.070	0.916	1

Les valeurs en gras représentent une forte corrélation entre les traits.

Les résultats montrent qu'il y a une forte corrélation entre les traits physiologiques. En effet le P.T et la B.T sont fortement corrélés (0.990) de même pour le P.G et la B.T (0.974), on remarque que tous les traits physiologiques sont fortement corrélés entre eux de même pour les traits phytochimiques où on note une forte corrélation entre les PPH.T et les F.T dans des conditions de stress salin ; alors que les traits phénologiques n'affichent aucune corrélation entre eux. Le trait des JMS a été modérément corrélé à tous les traits physiologiques, alors que les JMV a été le trait le plus corrélé aux traits phytochimiques.

4.1.2 L'analyse descriptive au niveau du cercle de corrélation :

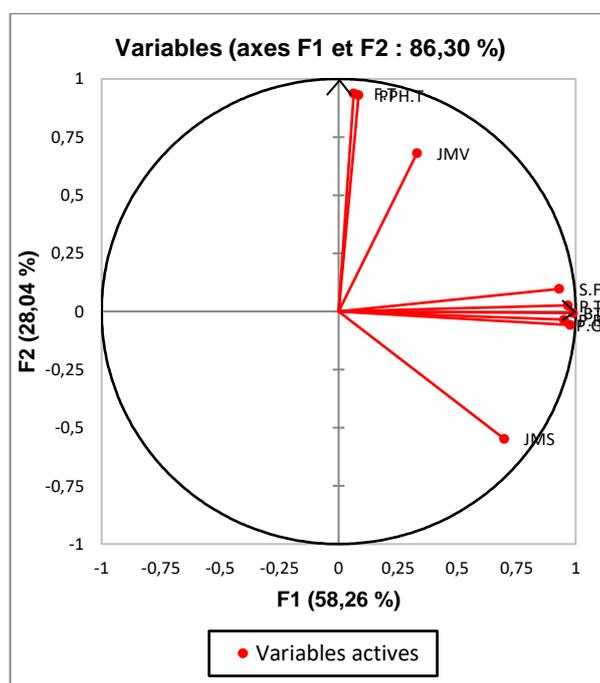


Figure 18 : Cercle de coefficient des corrélations des caractères sous des conditions salines.

Sous l'effet de la salinité, les deux composantes principales expliquent 86.3% de la variance totale. Les principales différences des traits ont été observées le long de l'axe principal de l'ACP (F1= 58.26% de la variance totale) qui était principalement associé aux traits physiologiques à savoir S.F, P.T, P.R, P.G et la BT ; alors que le second axe (F2= 28.04% de la variance totale) a été essentiellement associé aux traits phytochimiques : les PPH.T et les F.T. Les JMS et les JMV n'ont presque pas d'effet entre eux, alors que nous observons une forte corrélation positive entre les caractères physiologiques d'une part et les caractères phytochimiques d'autre part pour les JMV. Et si les JMS sont négativement corrélés aux variables phytochimiques elles sont modérément corrélées aux variables physiologiques, figure 18.

4.1.3 L'analyse descriptive au niveau des diagrammes de distribution des différents génotypes :

Dans des conditions normales les deux composantes principales expliquent 72,75% de la variance totale, le parent P_4 ainsi que les hybrides $P_2 \times P_4$ et $P_1 \times P_4$ sont hautement corrélés à l'axe principal (F1 = 43,73% de la variance totale) de même que pour le parent P_3 et les hybrides $P_1 \times P_2$ et $P_2 \times P_3$, toutefois ces deux groupes sont très contrastés pour les traits étudiés. Les parents P_2 et P_1 ont été moyennement corrélés à la deuxième composante (F2 = 29,02% de la variance totale), présentant eux aussi des résultats contrastés, Figure 19A.

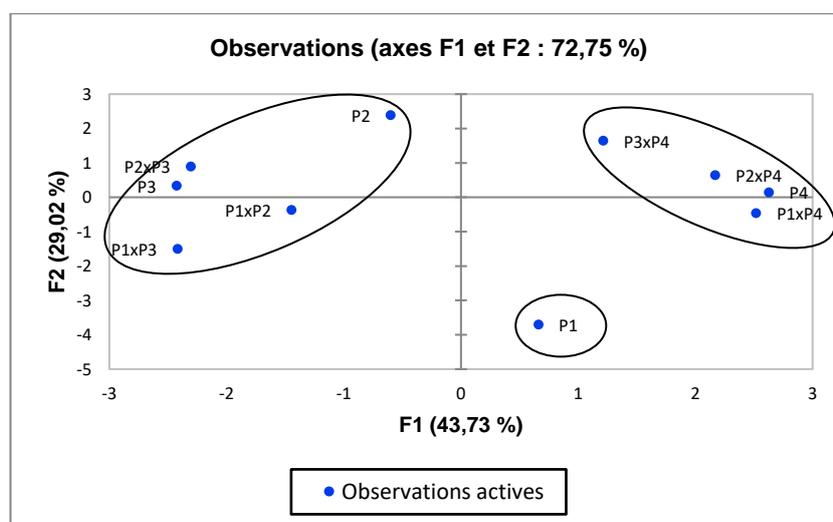


Figure 19A : Diagramme de distribution des génotypes non traités au sel.

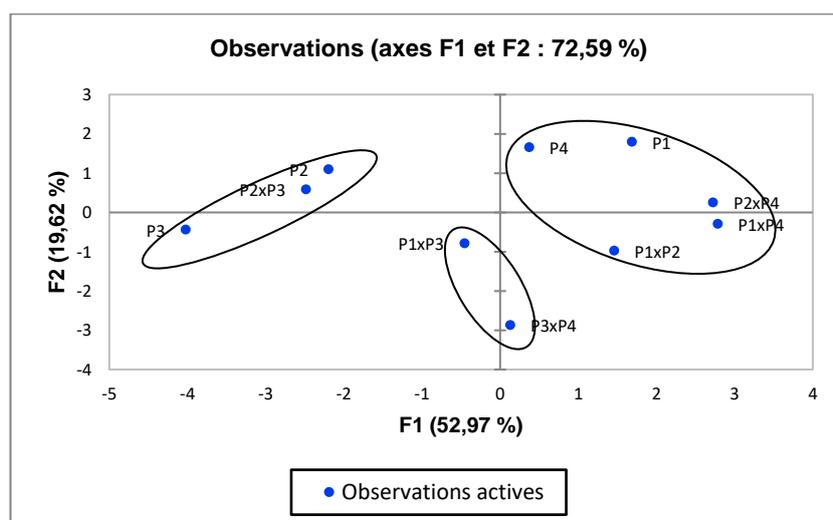


Figure 19B : Diagramme de distribution des génotypes traités avec 50mM d'NaCl.

Sous 50 mM NaCl, nous remarquons que les génotypes ont été grandement affectés par la salinité, le parent P₃ et les hybrides P₂xP₄ et P₂xP₃ ont été hautement corrélés à la 1^{ère} composante principale (F1 = 52.59% de la variance totale), alors que le parent P₄ et les hybrides P₃xP₄ et P₁xP₃ ont été corrélés à la 2^{ème} composante principale (F2 = 19.62% de la variance totale). Les parents P₁ et P₄ ont réagi d'une manière plus au moins similaire, et en moindre mesure pour les parents P₂ et P₃, alors que ces deux groupes de parents P₁, P₄ et P₂, P₃ ont des résultats contrastés pour la tolérance à la salinité, Figure 19B.

Sous 100 mM NaCl, la variance totale de la matrice explique 81.03% des données, les parents P₃ et P₂ et l'hybride P₂xP₃ ont été hautement corrélés au 1^{er} axe principal (F1 = 64.26% de la variance totale), alors que l'hybride P₂xP₄ a été hautement corrélé au 2^{ème} axe principal (F2 = 16.78% de la variance totale). L'hybride P₁xP₄ ainsi que les parents P₁ et P₄ ont des réactions très similaires au stress salin, tandis que l'hybride P₂xP₃ et les parents P₂ et P₃ sont hautement corrélés entre eux, ces deux groupes représentent les génotypes tolérants et sensibles respectivement, les hybrides P₁xP₃, P₃xP₄ et P₂xP₄ ont une tolérance intermédiaire vis-à-vis au stress salin, (figure 19C).

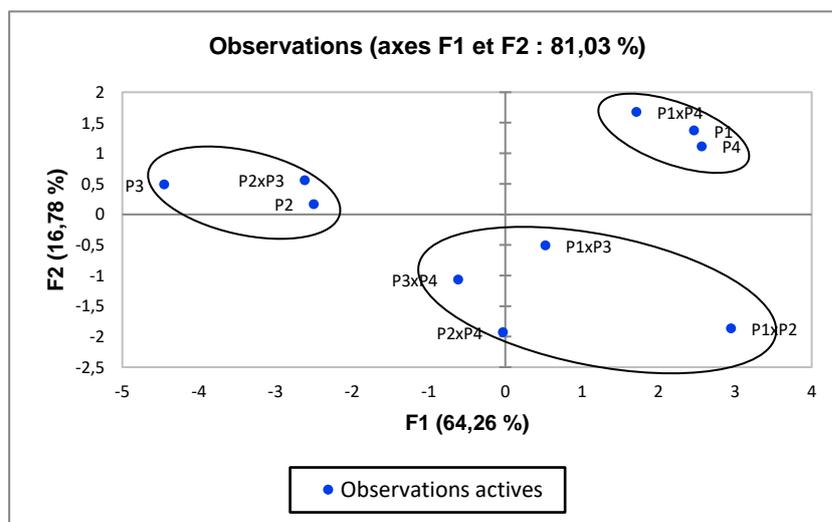


Figure 19C : Diagramme de distribution des génotypes traités avec 100mM d'NaCl.

4.2 Les traits phénologiques :

Les traits phénologiques sont d'une importance capitale en ce qui concerne la tolérance au stress salin en effet plus la plante est exposée au stress plus elle va subir les dommages de ce dernier, et donc la précocité et/ou le pouvoir de réduction du cycle de vie de la plante est un atout majeur pour contrer les effets du stress salin.

La durée de maturité verte et sèche a été significativement affectée par la salinité, tableau 9.

Tableau 9 : L'analyse de variance à deux facteurs sur l'interaction de la salinité et les génotypes étudiés pour les traits phénologiques.

Source de variation	JMV		JMS	
	df	F	F	
Génotypes (G)	9	532.84**	80.70**	
Traitements (T)	2	160.63**	669.43**	
Interaction (GxT)	18	9.44*	6.75**	
À l'intérieur du groupe	60			

*,** test significatif à 0.05 et 0.01 respectivement. JMV : Jours jusqu'à maturité verte, JMS : Jours jusqu'à maturité sèche.

La performance moyenne des parents et de leurs six hybrides est présentée dans le tableau 10 pour les jours jusqu'à maturité verte des gousses (elles sont consommables autant que légume frais) ; et sèche (essentiellement pour la production de légumes secs).

Tableau 10 : Performance moyenne de l'effet de la salinité sur les traits phénologiques pour toute la population.

Génotypes							
Génotypes	Traits	Jours jusqu'à maturité verte			Jours jusqu'à maturité sèche		
	Traitements	S0	S1	S2	S0	S1	S2
P1		76.33a	69.67b	68.00b	84.00a	76.67b	76.00b
P2		55.67a	55.67a	54.67a	90.67a	82.67b	79.33c
P3		57.67a	56.00a	55.33a	92.00a	85.00b	83.33b
P4		76.67a	70.00b	68.67b	86.67a	84.00a	79.00b
P1xP2		57.67a	55.00ab	54.00b	91.00a	79.67b	77.00c
P1xP3		57.33a	56.67a	54.33a	90.00a	82.67b	81.33b
P1xP4		77.00a	71.67b	68.33c	83.33a	76.00b	76.67b
P2xP3		57.33a	56.00a	56.33a	92.67a	86.33b	82.00c
P2xP4		61.33a	54.67b	54.33b	84.67a	78.00b	77.33b
P3xP4		56.00a	54.00a	54.67a	85.67a	81.33b	78.00c
moyenne		63.3	59.93	58.87	88.07	81.23	79
Tukey's HSD test			2,91			2.35	

S0: control; S1: 50 mM NaCl; S2: 100 mM NaCl

Les valeurs d'une même ligne suivies des mêmes lettres ne diffèrent pas significativement. (Tukey's HSD test, $P < 0.05$).

Le génotype parental P₁ (Coco Nain) a enregistré la diminution la plus élevée pour les JMV en condition saline, alors que le génotype parental P₄ (Améliore Roza) avait la réduction la plus élevée pour les JMS, le parent P₂ (MGT) présentait la plus faible diminution pour JMV et JMS, de même que pour le parent P₃ (Amina), en effet la réduction du temps pour la maturité est une aptitude très efficace pour contrer le stress salin. Une différence significative

a été enregistrée entre les différents traitements salins, elle est d'autant plus perceptible chez les hybrides, Figure 20A et B.

Tous les hybrides ont enregistré des réductions de jours pour la maturité verte et sèche, pour JMV, les hybrides $P_2 \times P_4$ et $P_1 \times P_4$ ont enregistré les meilleures valeurs, alors que $P_2 \times P_3$ et $P_3 \times P_4$ était les hybrides les moins performants. Pour JMS tous les hybrides ont vu leur temps de maturité réduit, l'hybride $P_3 \times P_4$ enregistrant la plus faible valeur, Figure 20A et B.

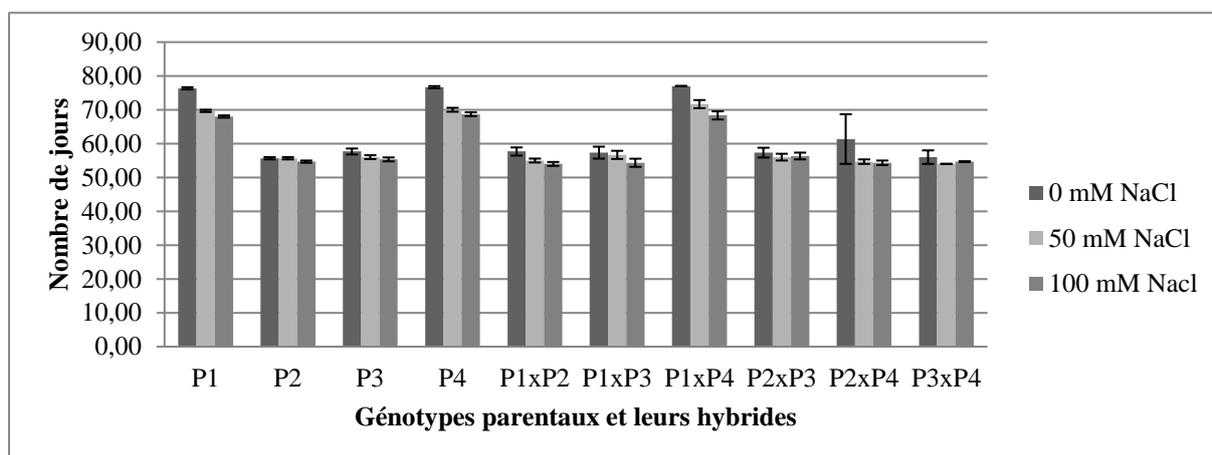


Figure 20A : L'effet de la salinité sur le nombre de jours jusqu'à maturité verte des différents génotypes. Les résultats sont des moyennes \pm S.E (n = 3 répétitions).

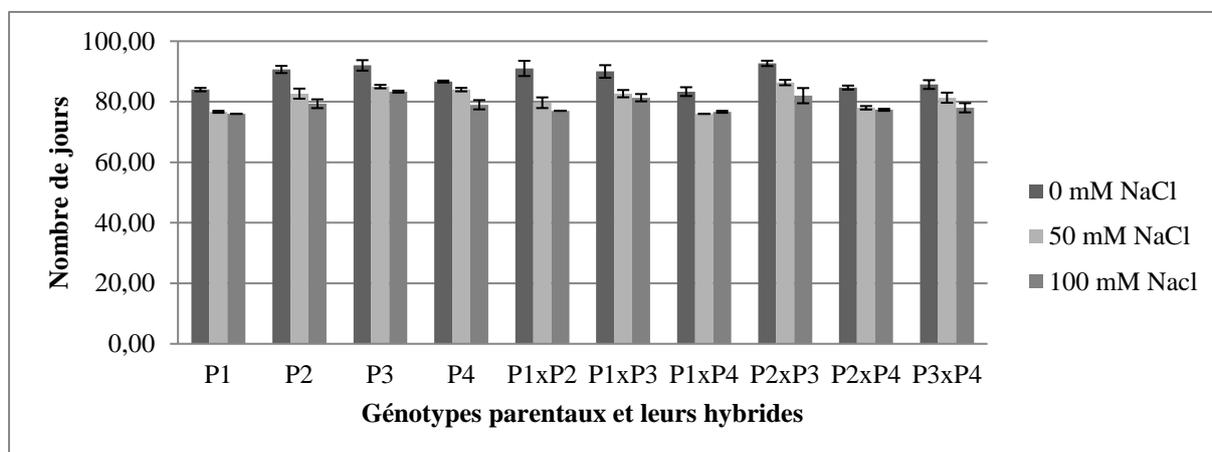


Figure 20B : L'effet de la salinité sur le nombre de jours jusqu'à maturité sèche des différents génotypes. Les résultats sont des moyennes \pm S.E (n = 3 répétitions).

4.3 Les traits physiologiques :

Cinq paramètres ont été calculés, la surface foliaire (très importante pour sa relation avec la photosynthèse et les échanges gazeux), le poids des racines en effet c'est le premier organe de la plante à être confronté au niveau élevé de sel, le poids des tiges (indicateur de tolérance, plus il est stable plus l'exclusion de sodium toxique est efficace), le poids des graines qui est le plus important caractère de production et la biomasse totale.

Tous les traits ont été hautement significatifs à $P < 0.01$, tableau 11

Tableau 11 : L'analyse de variance à deux facteurs sur l'interaction de la salinité et les génotypes étudiés pour les traits physiologiques.

Source de variation	S.F		P.R		P.T		P.G		BT	
	df	F	F	F	F	F	F	F	F	
Génotypes (G)	9	3571.82**	65.39**	815.20**	47.29**	1593.48**				
Traitements (T)	2	103533.59**	6564.06**	51572.09**	10659.35**	168824.91**				
Interaction (GxT)	18	1045.29**	128.78**	360.40**	48.27**	867.58**				
À l'intérieur du groupe	60									

*,** test significatif à 0.05 et 0.01 respectivement. S.F : Surface foliaire, P.R : Poids des racines, P.T : Poids des tiges, P.G : Poids des graines, BT : Biomasse totale.

Les performances moyennes de la population pour les traits physiologiques sont présentées dans le tableau 12.

Tous les paramètres étudiés ont été significativement affectés par la salinité. Sous des conditions salines, le parent P_1 (Coco Nain) a enregistré la valeur la plus élevée pour la surface foliaire (98.26 ; 44.11) (soustraction par rapport à la concentration 0mM NaCl), le poids des racines (18.07 ; 15.83), le poids des graines (9.93 ; 4.47) et la biomasse totale (63.33 ; 48.13), alors que le génotype parental P_4 (Améliore Roza) avait la valeur la plus élevée pour le poids des tiges (34.13 ; 48.67).

Le parent P_2 (MGT) présentait la plus faible valeur pour le poids des tiges (15,07 ; 7,70), le poids des graines (8,07, 1,33) et la biomasse totale (45,90 ; 19,43), tandis que le parent P_3 (Amina) a montré la valeur la plus faible pour la surface foliaire (16,85 ; 9,40) et le poids des tiges (21,30 ; 5,50) sous 50 mM et 100 mM NaCl respectivement.

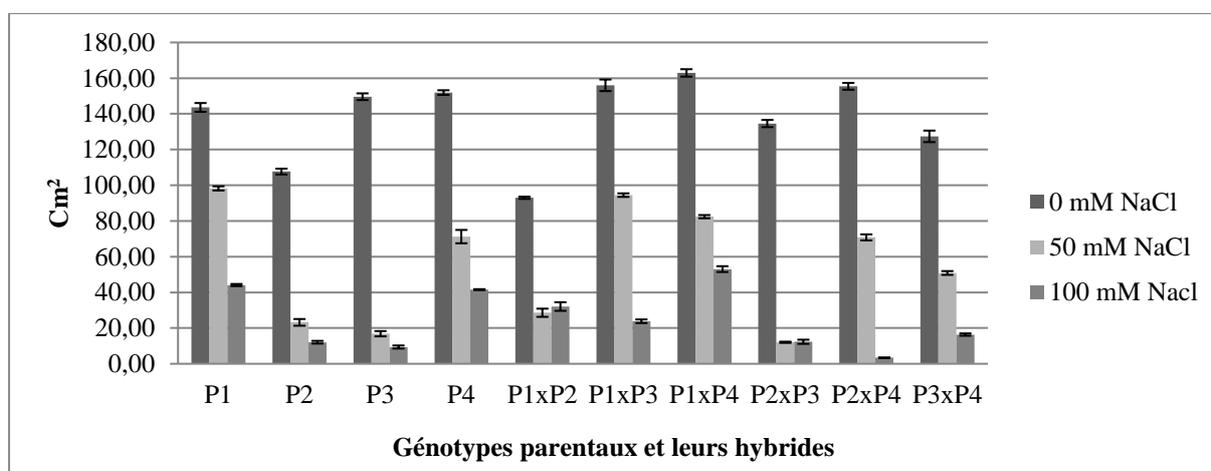


Figure 21A : L'effet de la salinité sur la surface foliaire des différents génotypes. Les résultats sont des moyennes \pm S.E (n = 3 répétitions).

Tableau 12 : Performance moyenne de l'effet de la salinité sur les traits physiologiques pour toute la population.

Génotypes										
Traits	Surface foliaire (cm²)			Poids des racines (g)			Biomasse Totale (g)			
Traitements	S0	S1	S2	S0	S1	S2	S0	S1	S2	
P1	143.61a	98.26b	44.11c	87.27a	35.33b	27.83c	150.07a	63.33b	48.13c	
P2	107.67a	23.21b	12.08c	102.73a	22.77b	10.40c	199.10a	45.90b	19.43c	
P3	149.60a	16.85b	9.40c	102.13a	21.30b	5.50c	175.53a	41.07b	12.67c	
P4	151.91a	71.25b	41.53c	105.53a	34.13b	48.67c	200.47a	62.47b	63.63b	
P1xP2	93.00a	28.59b	32.07c	102.67a	40.73b	60.13c	167.67a	76.30b	82.53b	
P1xP3	155.99a	94.48b	23.83c	81.40a	31.07b	33.90b	152.97a	60.63b	50.53c	
P1xP4	162.91a	82.42b	53.04c	115.03a	38.17b	23.67c	193.97a	77.30b	43.47c	
P2xP3	134.57a	12.05b	12.34b	100.27a	27.13b	7.13c	182.73a	50.23b	13.27c	
P2xP4	155.42a	70.80b	3.36c	115.97a	44.90b	33.73c	199.23a	81.53b	52.47c	
P3xP4	127.40a	50.86b	16.36c	114.73a	43.20b	32.67c	201.73a	76.60b	49.83c	
moyenne	138.21	54.87	24.81	102.77	33.87	28.36	182.35	63.54	43.60	
Tukey's HSD test		3.26			4.52			6.99		
Génotypes										
Traits	Poids des tiges (g)			Poids des graines (g)						
Traitements	S0	S1	S2	S0	S1	S2				
P1	33.53a	18.07b	15.83b	29.27a	9.93b	4.47c				
P2	50.10a	15.07b	7.70c	46.27a	8.07b	1.33c				
P3	39.70a	12.77b	5.93c	33.70a	7.00b	1.23c				
P4	52.70a	19.00b	10.47c	42.23a	9.33b	4.50c				
P1xP2	29.43a	20.87b	17.90b	35.57a	14.70b	4.50c				
P1xP3	36.03a	18.10b	12.33c	35.53a	11.47b	4.30c				
P1xP4	37.23a	25.87b	16.07c	41.70a	13.27b	3.73c				
P2xP3	51.37a	14.53b	8.13c	31.10a	8.57b	1.33c				
P2xP4	37.87a	28.53b	17.63c	45.40a	8.10b	1.10c				
P3xP4	41.87a	23.03b	13.93c	45.13a	10.37b	3.23c				
moyenne	40.98	19.58	12.59	38.59	10.08	2.97				
Tukey's HSD test		4.52			2.09					

S0: control; S1: 50 mM NaCl; S2: 100 mM NaCl

Les valeurs d'une même ligne suivies des mêmes lettres ne diffèrent pas significativement. (Tukey's HSD test, $P < 0.05$).

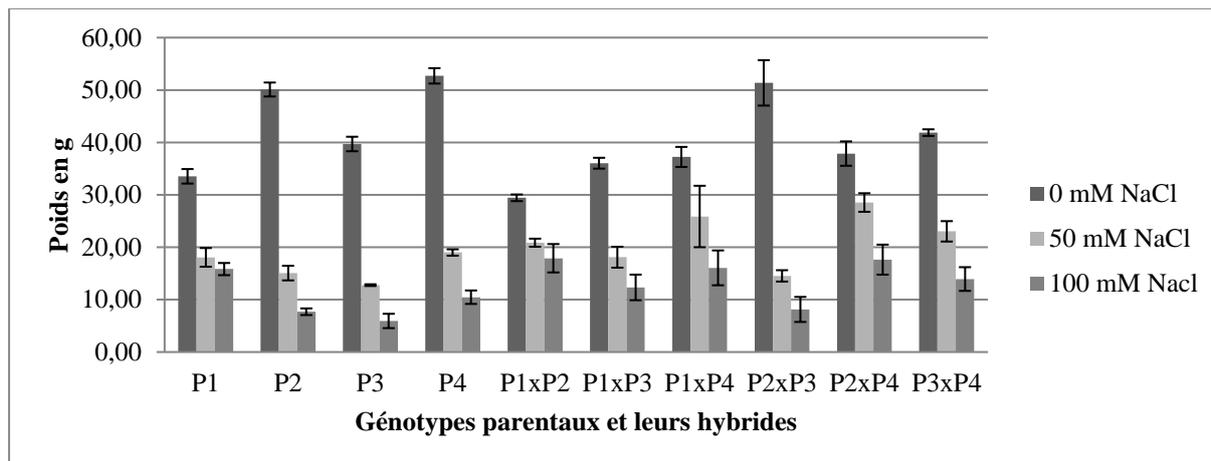


Figure 21B : L'effet de la salinité sur le poids des tiges des différents génotypes. Les résultats sont des moyennes \pm S.E (n = 3 répétitions).

Les hybrides $P_1 \times P_2$ (Coco Nain x MGT) présentaient la valeur la plus élevée pour le poids des racines (20,87 ; 17,90), poids des tiges (14,70 ; 4,50) et la biomasse totale (76,30 ; 82,53), tandis que l'hybride $P_1 \times P_4$ (Coco Nain x Améliore Roza) a enregistré la valeur la plus élevée pour la surface foliaire (82,42 ; 53,04), le croisement $P_2 \times P_3$ (MGT x Amina) présentait la plus faible valeur pour la biomasse totale (50.23 ; 13.27), tandis que le croisement $P_2 \times P_4$ (MGT x Améliore Roza) a enregistré la valeur la plus basse pour la surface foliaire (70.80 ; 3.36) et le poids des graines (8.10 ; 1.10) sous 50 mM et 100 mM NaCl respectivement. Pour le poids des tiges, les croisements $P_1 \times P_2$ et $P_1 \times P_3$ (Coco Nain x Amina) ont enregistré respectivement les valeurs les plus élevées 60.13 et 31.07 sous 100 et 50 mM NaCl, alors que les croisements $P_1 \times P_4$ et $P_2 \times P_3$ ont enregistré les plus faibles valeurs 38.17 et 7.13 sous 50 et 100 mM NaCl respectivement, figure 21 A,B,C,D et E.

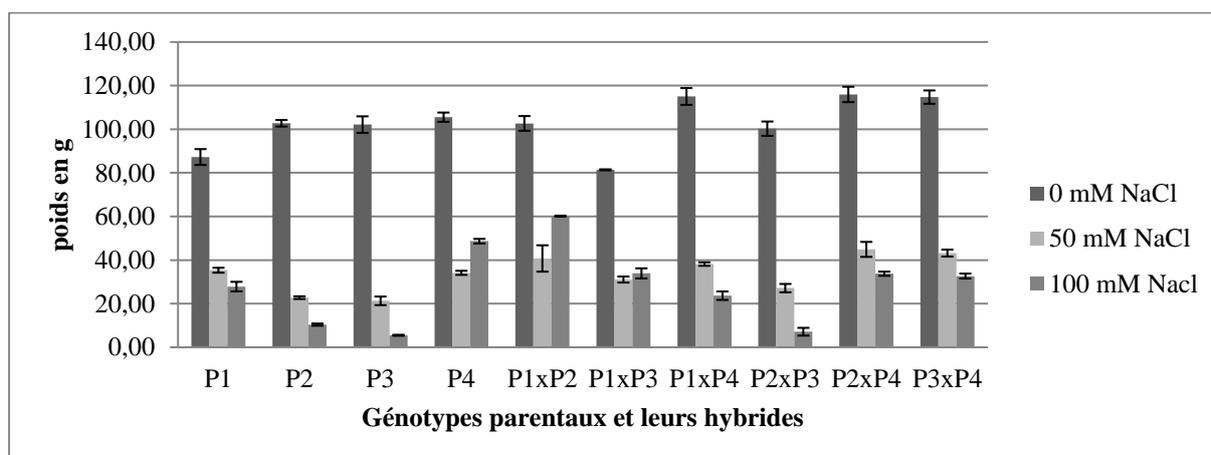


Figure 21C : L'effet de la salinité sur le poids des racines des différents génotypes. Les résultats sont des moyennes \pm S.E (n = 3 répétitions).

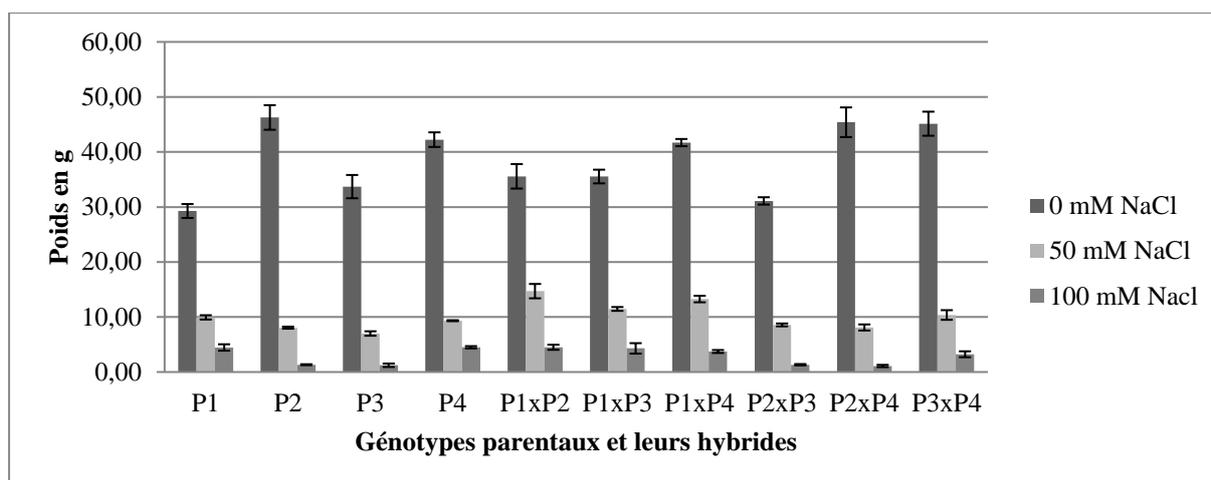


Figure 21D : L'effet de la salinité sur le poids des graines des différents génotypes. Les résultats sont des moyennes \pm S.E (n = 3 répétitions).

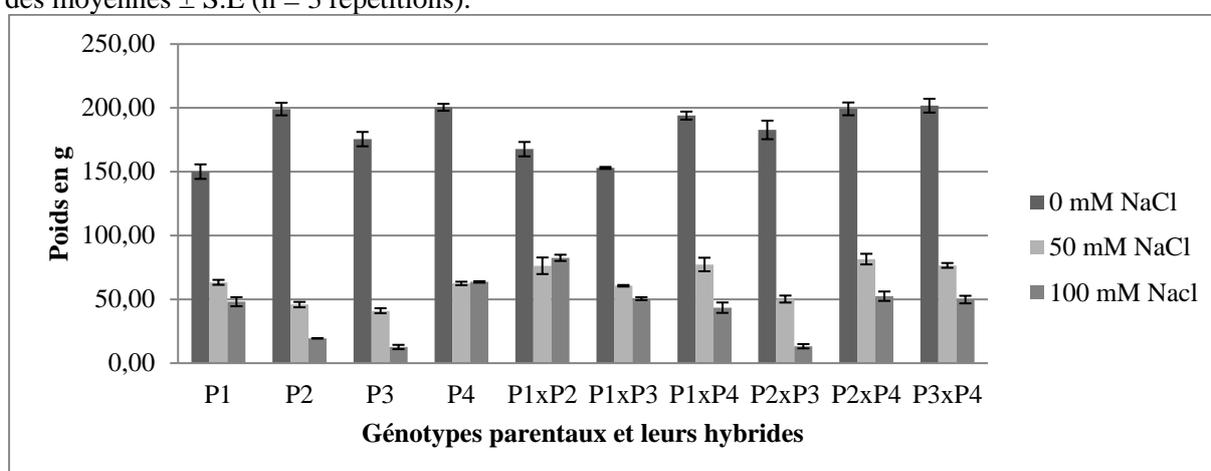


Figure 21E : L'effet de la salinité sur la biomasse totale des différents génotypes. Les résultats sont des moyennes \pm S.E (n = 3 répétitions).

4.4 Les traits phytochimiques :

Les résultats de l'analyse statistique sont présentés dans le tableau 13, l'interaction entre les différents génotypes et les traitements était hautement significative à p -value < 0.01 , ce qui nous indique qu'il y a une forte corrélation pour la production de métabolites secondaires en milieu salin.

Tableau 13 : L'analyse de variance à deux facteurs sur l'interaction de la salinité et les génotypes étudiés pour les traits phytochimiques.

Source de variation	PPH.T		F.T
	df	F	F
Génotypes (G)	9	17.90**	29.54**
Traitements (T)	2	0.24	0.32
Interaction (GxT)	18	4.34**	3.32**
À l'intérieur du groupe	60		

*,** test significatif à 0.05 et 0.01 respectivement. PPH.T : Polyphénols totaux, F.T : Flavonoïdes totaux.

Les performances moyennes de la population étudiée sont présentées dans le tableau 14.

Tableau 14 : Performance moyenne de l'effet de la salinité sur les traits phytochimiques pour toute la population.

Génotypes	Traits	Polyphénols totaux (mg/g)			Flavonoïdes totaux (mg/g)		
	Traitements	S0	S1	S2	S0	S1	S2
P1		6.05a	6.42a	5.19ab	0.22a	0.20a	0.22a
P2		3.83a	4.83a	3.35ab	0.08a	0.15b	0.10a
P3		1.44a	1.61a	1.49a	0.02a	0.00a	0.00a
P4		6.65a	6.50a	6.54a	0.23a	0.17b	0.21a
P1xP2		3.81a	4.48a	5.99b	0.15a	0.21b	0.18b
P1xP3		2.26a	2.86a	5.92b	0.08a	0.07a	0.16b
P1xP4		5.72a	4.43b	4.42b	0.15a	0.13a	0.16a
P2xP3		2.05a	4.56b	4.31b	0.05a	0.13b	0.12b
P2xP4		5.79a	6.80a	4.88ab	0.18a	0.24b	0.15c
P3xP4		5.68a	1.10b	2.97c	0.12a	0.01b	0.06c
moyenne		4.32	4.36	4,50	0.12	0.13	0.13
Tukey's HSD test			1.13			0.0038	

S0: control; S1: 50 mM NaCl; S2: 100 mM NaCl

Les valeurs d'une même ligne suivies des mêmes lettres ne diffèrent pas significativement. (Tukey's HSD test, $P < 0.05$).

Sous des conditions salines (50 mM NaCl), la teneur phénolique totale augmente pour tous les parents sauf pour le parent P_4 (Améliore Roza) où la tendance tend à diminuer, de même que pour les quatre croisements $P_1 \times P_2$ (Coco Nain x MGT); $P_1 \times P_3$ (Coco Nain x Amina); $P_2 \times P_3$ (MGT x Amina) et $P_2 \times P_4$ (MGT x Améliore Roza), l'augmentation maximale a été enregistrée par l'hybride $P_2 \times P_3$ (4.56). Sous le traitement de 100 mM NaCl, la teneur totale en composés phénoliques diminue pour tous les parents sauf pour le parent P_3 (Amina) et les croisements $P_1 \times P_2$; $P_1 \times P_3$ et $P_2 \times P_3$, la diminution maximale était dans le croisement $P_3 \times P_4$ (Amina x Améliore Roza) (2.97), alors que l'augmentation maximale était dans le croisement $P_2 \times P_3$ (4.31).

La teneur totale en flavonoïdes diminue sous 50 mM d'NaCl pour tous les parents et les hybrides sauf pour le parent P_2 (MGT) et les hybrides $P_1 \times P_2$; $P_2 \times P_3$ et $P_2 \times P_4$; la diminution et l'augmentation maximales ont été enregistrées chez les hybrides $P_3 \times P_4$ (0,11) et $P_2 \times P_3$ (0,13) respectivement. Sous 100 mM d'NaCl, la teneur totale en flavonoïdes augmente pour le génotype parental P_2 (MGT) et tous les hybrides sauf $P_2 \times P_4$ et $P_3 \times P_4$; l'augmentation et la diminution maximales ont été enregistrées chez les hybrides $P_1 \times P_3$ (0,16) et $P_3 \times P_4$ (0,06) respectivement.

Pour les génotypes parentaux P_1 (Coco nain) et P_3 (Amina) la production de polyphénols est relativement stable sous l'effet croissant de la salinité, par contre les parents

P_2 (MGT) et P_4 (Améliore roza) voient leur production de polyphénols augmentée dans des conditions salines moyennes et fortement diminuée à des concentrations de salinité élevées, figure 22A.

Pour les croisements $P_1 \times P_2$ (Coco Nain x MGT) et $P_1 \times P_3$ (Coco Nain x Amina) la production des polyphénols a été proportionnelle à celle de la salinité et à moindre mesure pour le croisement $P_1 \times P_3$, où il voit sa production légèrement diminuer à des taux de salinité élevés. Le reste des croisements montrent une diminution de production avec l'augmentation de la salinité ($P_1 \times P_4$) ; une augmentation puis une forte diminution ($P_2 \times P_4$) et une forte diminution puis une augmentation ($P_3 \times P_4$), figure 22A.

Le taux des flavonoïdes totaux a été grandement affecté par la salinité : les parents P_1 et P_4 enregistrent les meilleures valeurs sous des conditions salines et non-salines, cependant la production a fortement baissé à 50 mM d'NaCl, par contre le parent P_2 a vu sa production augmenter à ce même niveau. Pour le parent P_3 la production des flavonoïdes était très faible dans des conditions non-salines, alors qu'elle a été nulle dans des conditions salines, figure 22B.

Trois croisements ont vu leur production de flavonoïdes augmenter dans des conditions salines modérées à savoir : $P_1 \times P_2$, $P_2 \times P_4$ et $P_2 \times P_3$, on remarque que le parent P_2 est impliqué dans tous ces croisements, alors que les croisements $P_1 \times P_4$ et $P_1 \times P_3$ augmentent leur production dans des conditions salines élevées. La plus forte diminution a été enregistrée par l'hybride $P_3 \times P_4$, figure 22B.

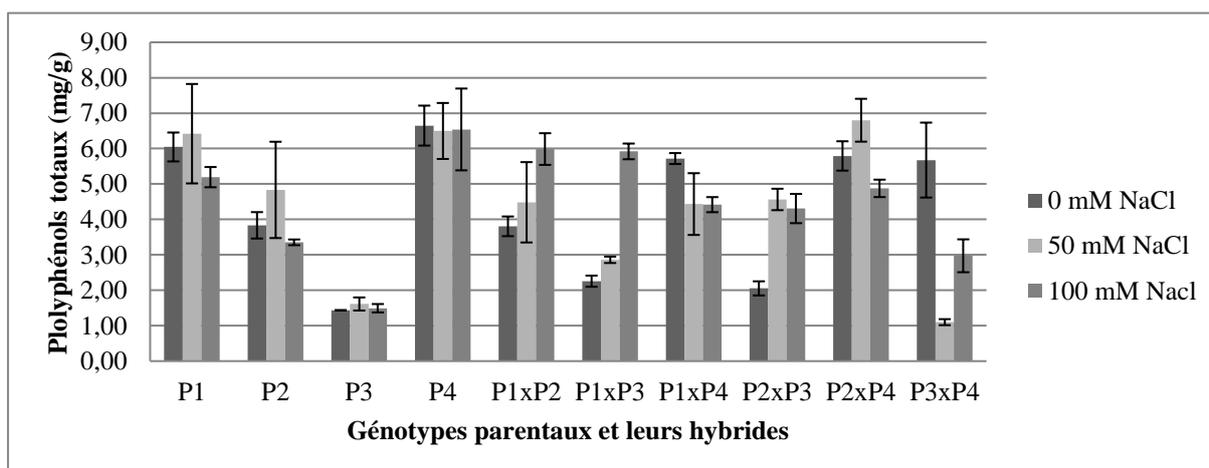


Figure 22A : L'effet de la salinité sur la synthèse des polyphénols totaux des différents génotypes. Les résultats sont des moyennes \pm S.E (n = 3 répétitions).

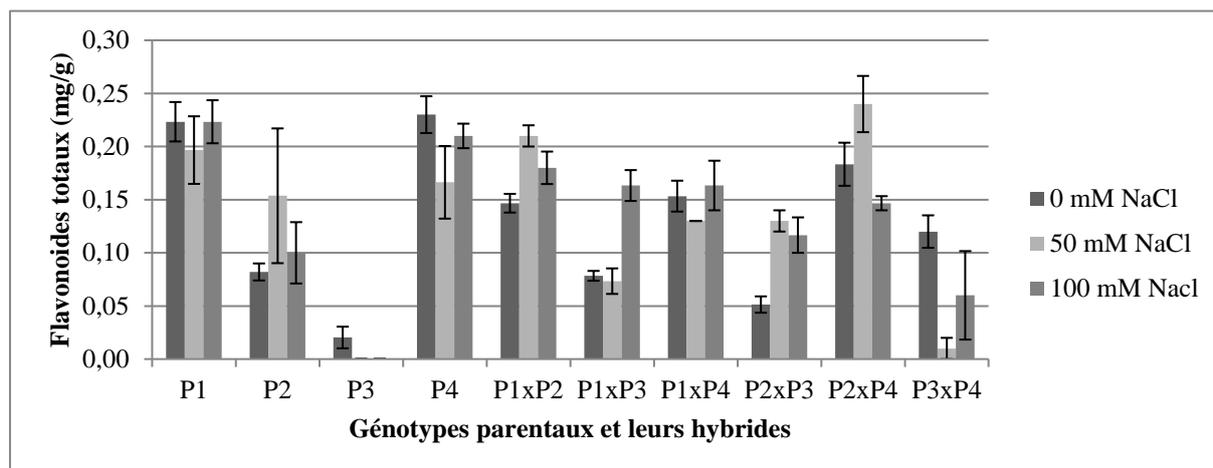


Figure 22B : L'effet de la salinité sur la synthèse des flavonoïdes totaux des différents génotypes. Les résultats sont des moyennes \pm S.E (n = 3 répétitions).

4.5 L'analyse diallèle, les effets d'hétérosis et l'héritabilité des traits sous stress salin :

4.5.1 L'analyse Diallèle et ses composantes génétiques :

L'analyse statistique a révélé des différences significatives entre les parents et leurs hybrides F_1 pour tous les caractères (tableaux 9 ; 11 et 13). De ce fait, l'analyse détaillée de l'GCA et SCA et du type d'action des gènes était appropriée pour les caractères étudiés au cours de notre étude.

L'ANOVA de l'ensemble des données diallèles a montré que les carrés moyens dus à l'GCA été hautement significatives pour tous les caractères, ainsi que l'interaction génotypes-traites sous des conditions salines ; alors que les données pour l'SCA sont significatives pour tous les caractères et dans toutes les conditions sauf pour les JMS sous 100 mM NaCl (2.09), on remarque que sous des les traitements 50 et 100mM NaCl l'SCA tends a être moins significative, toutefois les traits JMV, S.F, P.T et le P.G ont exhibé des valeurs hautement significatives, (Tableau 15)..

Le rapport GCA / SCA des carrés moyens pour tous les caractères étudiés était supérieur à l'unité (1), (Tableau 15).

4.5.2 L'effet d'hétérosis (vigueur hybride) :

Le pourcentage d'hétérosis estimé par rapport à la moyenne des parents (MP ; mid-parent) et Hétérobeltosis estimé par rapport à la moyenne des meilleurs parents (BP ; best parent) est présenté dans le tableau 16.

Tableau 15 : Carrés moyens obtenus à partir de l'ANOVA et l'aptitude à la combinaison pour les caractères étudiés.

Traits	Tr. Salins	Génotypes	GCA	SCA	GCA/SCA	Erreur
JMV						
	S0	262.10**	193.14**	34.48**	5.6	6.79
	S1	160.28**	106.17**	27.06**	3.92	0.57
	S2	129.34**	83.28**	23.03**	3.62	0.21
JMS						
	S0	37.99**	26.27**	5.86**	4.49	2.27
	S1	37.71**	23.83**	6.94**	3.44	1.29
	S2	18.52**	14.33**	2.09	6.85	1.56
S.F						
	S0	1558.77**	709.29**	424.74**	1.67	4.88
	S1	3240.52**	2334.24**	453.14**	5.15	3.52
	S2	863.13**	658.44**	102.35**	6.43	1.42
P.T						
	S0	393.00**	208.14**	92.43**	2.25	9.15
	S1	203.67**	84.79**	59.44**	1.43	6.74
	S2	939.34**	374.23**	282.56**	1.32	2.22
P.R						
	S0					
	S1	189.27**	97.15**	46.06**	2.11	3.89
		76.78**	33.91**	21.43*	1.58	5.75
	S2	56.90**	30.58**	13.16*	2.32	3.38
P.G						
	S0	118.83**	75.39**	21.72**	3.47	3.17
	S1	17.94**	6.87**	5.54**	1.24	0.34
	S2	7.07**	4.92**	1.07**	4.59	0.21
BT						
	S0	1190.76**	1018.36**	86.20*	11.81	23.92
	S1	616.47**	277.24**	169.61**	1.63	12.04
	S2	1521.42**	735.04**	393.19**	1.87	6.12
PPH.T						
	S0	10.86**	9.21**	0.83*	11.15	0.21
	S1	11.82**	7.51**	2.16*	3.48	0.73
	S2	7.25**	3.67**	1.79**	2.05	0.23
F.T						
	S0	0.02**	0.01**	0.0009**	15.12	0.0002
	S1	0.02**	0.02**	0.0022*	6.84	0.0008
	S2	0.01**	0.01**	0.0014*	7.87	0.0005

*,** test significatif à 0.05 et 0.01 respectivement. S0: Control, S1: 50 mM NaCl, S2: 100 mM NaCl.

Hybrides	JMV (%)						JMS (%)					
	S0		S1		S2		S0		S1		S2	
	MP	BP	MP	BP	MP	BP	MP	BP	MP	BP	MP	BP
P1xP2	-12.63**	3.59	-12.23**	-1.20	-11.96**	-1.22	4.20*	8.33**	0.00	3.91*	-0.86	1.32
P1xP3	-14.43**	-0.58	-9.81**	1.19	-11.89**	-1.81	2.27	7.14**	2.27	7.83**	2.09	7.02**
P1xP4	0.65	0.87	2.63*	2.87*	0.00	0.49	-2.34	-0.79	-5.39**	-0.87	-1.08	0.88
P2xP3	1.18	2.99	0.30	0.60	2.42*	3.05**	1.46	2.21	2.98	4.44*	0.82	3.36
P2xP4	-7.30	10.18	-13.00**	-1.80	-11.89**	-0.61	-4.51*	-6.62	-6.40**	-5.65**	-2.32	-2.11
P3xP4	-16.63**	-2.89	-14.29**	-3.57*	-11.83**	-1.20	-4.10*	-1.15	-3.75*	-3.17	-3.90*	-1.27
	P.T (%)						P.R (%)					
	S0		S1		S2		S0		S1		S2	
	MP	BP	MP	BP	MP	BP	MP	BP	MP	BP	MP	BP
P1xP2	8.07*	-0.06	40.22**	15.28	214.56**	116.05**	-29.61**	-41.25**	25.96	38.50	52.12**	13.05
P1xP3	-14.04**	-20.30**	9.71	-12.08	103.40**	21.80**	-1.59	-9.24	17.41	41.78	13.32	-22.11
P1xP4	19.33**	9.00*	9.88	8.02	-38.13**	-51.37**	-13.65*	-29.35**	39.57**	36.14*	22.18	1.47
P2xP3	-2.12	-2.40	23.15	19.18	-10.27	-31.41	14.40**	2.53	4.43	-3.54	19.32	5.63
P2xP4	11.36**	9.89*	57.82**	31.54**	14.22*	-30.68**	-26.33**	-28.15**	67.51**	50.18**	94.13**	68.47**
P3xP4	10.50**	8.72*	55.86**	26.56*	20.62**	-32.88**	-9.38*	-20.56**	45.02*	21.23	69.92**	33.12
	BT (%)						PPH.T (%)					
	S0		S1		S2		S0		S1		S2	
	MP	BP	MP	BP	MP	BP	MP	BP	MP	BP	MP	BP
P1xP2	-3.96	-15.79**	39.70**	20.47**	144.30**	71.47**	-22.96*	-37.06**	-20.32	-30.17	40.09**	15.28
P1xP3	-6.04	-23.17**	16.16*	-4.26	66.23**	4.99	-39.66**	-62.67**	-28.80	-55.45**	77.07**	13.99
P1xP4	10.67**	-3.24	22.89**	22.05**	-22.22**	-31.69**	-9.90	-13.99	-31.35*	-31.76	-24.72*	-32.47**
P2xP3	-2.45	-8.22*	15.52	9.44	-17.34	-31.73	-22.05	-46.43**	41.57	-5.59	77.72**	28.43
P2xP4	-0.28	-0.62	50.48**	30.52**	26.32**	-17.55**	10.51	-12.89	20.04	4.67	-1.42	-25.43*
P3xP4	7.30*	0.63	47.97**	22.63**	30.62**	-21.69**	40.41**	-14.64	-72.87**	-83.07**	-25.98	-54.54**
	S.F (%)						F.T (%)					
	S0		S1		S2		S0		S1		S2	
	MP	BP	MP	BP	MP	BP	MP	BP	MP	BP	MP	BP
P1xP2	-25.98**	-35.24**	-52.93**	-70.91**	14.14**	-27.31**	-3.93	-34.33**	19.89	6.78	11.34	-19.40
P1xP3	6.40**	4.27*	64.17**	-3.84	-10.94*	-45.99**	-35.70**	-64.93**	-25.42	-62.71**	46.27*	-26.87*
P1xP4	10.26**	7.24**	-2.76	-16.12**	23.88**	20.24**	-32.35**	-33.33**	-28.37	-33.90	-24.62*	-26.87*
P2xP3	4.61*	-10.05**	-39.85**	-48.09**	14.96	2.21	0.33	-37.40	69.20	-15.40	133.33**	16.67
P2xP4	19.75**	2.31	49.92**	-0.62	-87.46**	-91.91**	17.52	-20.29*	50.00*	44.29*	-5.38	-30.16*
P3xP4	-15.50**	-16.14**	15.48**	-28.61**	-35.73**	-60.60**	-4.13	-47.83**	-87.98*	-93.99**	-42.86	-71.43**
	P.G (%)											
	S0		S1		S2							
	MP	BP	MP	BP	MP	BP						
P1xP2	-5.83*	-23.13**	63.33**	82.23**	55.17**	0.75						
P1xP3	12.86**	5.44	35.43**	63.81**	50.88**	-3.73						
P1xP4	16.64**	-1.26	37.72**	42.14**	-16.73	-17.04						
P2xP3	-22.22**	-32.78*	13.72	6.20	3.90	0.00						
P2xP4	2.60	-1.87	-6.90	0.41	-62.29**	-75.56**						
P3xP4	18.88**	6.87	26.94**	11.07	12.79	-28.15*						

Tableau 16:
Pourcentage
d'hétérosis par
rapport aux parents
moyens (MP) et
meilleurs (BP)
pour tous les
caractères étudiés.

*, ** test
significatif à 0.05
et 0.01
respectivement.
S0: Control, S1: 50
mM NaCl, S2: 100
mM NaCl.

Une hétérosis négative est souhaitable pour les JMV et les JMS, le pourcentage d'hétérosis des JMV, et par rapport au MP était négativement significatif pour $P_1 \times P_2$, $P_1 \times P_3$, $P_3 \times P_4$, dans toutes les conditions et pour $P_2 \times P_4$ sous 50 et 100 mM NaCl. Par rapport à l'hétérobeltosis (BP), l'hybride $P_3 \times P_4$ était significativement négatif. Alors que pour les JMS et par rapport au MP les croisements $P_2 \times P_4$ et $P_3 \times P_4$ sont significativement négatifs sous 0 et 50 mM NaCl ; les croisements $P_1 \times P_4$ et $P_3 \times P_4$ sont significativement négatifs sous 50 et 100 mM NaCl respectivement, l'hétérosis par rapport au BP affiche des valeurs significativement négatives pour un seul hybride, à savoir $P_2 \times P_4$ sous 50 mM NaCl.

Pour la S.F, les valeurs sont très significatives pour presque tous les traitements, pour l'effet d'hétérosis par rapport au parent moyen (MP), les hybrides $P_2 \times P_4$; $P_1 \times P_3$ et $P_1 \times P_4$ (23.88%) ont enregistré le plus haut pourcentage sous 0, 50 et 100 mM NaCl respectivement ; alors que l'hybride $P_1 \times P_4$ a exhibé la plus haute valeur pour l'hétérosis du meilleur parent (BP) sous 0 et 100 mM NaCl avec 7.24% et 20.24% respectivement.

Pour le P.T, trois croisements $P_1 \times P_2$, $P_2 \times P_4$ et $P_3 \times P_4$ ont montré des valeurs positives et significatives pour toutes les conditions. Les croisements $P_2 \times P_4$ et $P_3 \times P_4$ ont enregistré des valeurs significativement positives et négatives pour le BP sous tous les traitements, alors que l'hybride $P_1 \times P_2$ a affiché les plus hautes valeurs : 214.56% et 116.05% pour MP et BP respectivement sous 100 mM NaCl.

Pour P.R, l'hétérosis du MP et du BP ont montré des valeurs de -29.61 à 14.40% et de -41.25 à 2.53% sous des conditions non-saline ; et de 4.43% à 67.51% et de -3.54% à -50.18% sous 50 mM NaCl, alors qu'elles se situaient de 13.32% à 94.13% et de -22.11 à 68.47% sous 100 mM NaCl respectivement. Le croisement $P_2 \times P_4$ a enregistré les plus hautes valeurs positives et significatives pour l'effet d'hétérosis avec 94.13% et 68.74% pour le MP et le BP respectivement sous 100 mM NaCl.

Le poids des graines est l'un des traits le plus important qui influence le rendement, une hétérosis significative par rapport au MP a été observée dans toutes les conditions, le croisement $P_1 \times P_2$ a montré la valeur la plus élevée, tandis que l'hétérosis lié au BP a exhibé des valeurs significatives sous 50 mM NaCl, où le croisement $P_1 \times P_2$ présentait la valeur la plus élevée.

La biomasse totale est un trait complexe, c'est le produit final multiplicatif de plusieurs composants de base de la réponse physiologique, tous les croisements sauf $P_2 \times P_3$ ont

enregistré une hétérosis hautement significative par rapport au MP sous 50 et 100 mM NaCl. Alors qu'une hétérosis significative par rapport au BP a été notée sous 50 mM NaCl et qui variait entre -4,26% et 30,52%, le croisement $P_1 \times P_2$ a montré la valeur la plus élevée pour le MP et le BP sous 100 mM NaCl avec respectivement 144,30% et 71,47%.

Pour la teneur en composés phénoliques totaux, dans des conditions salines (100 mM NaCl), les croisements $P_1 \times P_2$, $P_1 \times P_3$, $P_1 \times P_4$ ont enregistré un effet d'hétérosis positif et significatif le plus élevé relatif au MP, alors que le croisement $P_3 \times P_4$ (40,41%) a affiché la valeur positive la plus élevée dans les conditions non salines, aucun des croisements n'a montré d'effet d'hétérosis significatif par rapport au BP.

Pour les flavonoïdes totaux, dans des conditions salines (100 mM NaCl), deux croisements, à savoir $P_1 \times P_3$ et $P_2 \times P_3$, ont montré une hétérosis positive relative au MP, la valeur la plus élevée a été affichée par le croisement $P_2 \times P_3$ (133,33%), tandis que le croisement $P_2 \times P_4$ a enregistré la valeur d'hétérosis la plus élevée pour le MP et le BP sous le traitement 50 mM NaCl avec respectivement 50% et 44,29%.

4.5.3 Les effets de l'aptitude à la combinaison :

La magnitude des effets de l'GCA et l'SCA est révélatrice de l'importance relative des actions génétiques additives et non additives dans l'hérédité d'un caractère. Nous procédons donc au calcul de ces effets. Les estimations des effets de l'GCA et l'SCA pour différents génotypes sont présentées dans le tableau 17 et le tableau 18, respectivement.

Pour les JMV, tous les parents ont montré des effets d'GCA très significatifs dans toutes les conditions, les génotypes parentaux P_1 (Coco nain) et P_4 (Améliore roza) présentent des valeurs positives, la valeur positive la plus élevée étant recordée par le parent P_1 , sous 50 mM NaCl. Par rapport aux effets d'SCA, seuls deux croisements $P_1 \times P_4$ et $P_2 \times P_3$ ont montré des valeurs positives et significatives en conditions salines, le croisement $P_1 \times P_4$ ayant affiché la valeur la plus élevée sous 50 mM NaCl.

Pour les JMS, le parent P_3 (Amina) a montré des effets d'GCA significativement positifs dans toutes les conditions, alors que les parents P_1 et P_4 ont enregistré des valeurs négatives et significatives sous 0 et 50 mM NaCl, respectivement. Par contre, aucun des croisements n'a exhibé de valeurs significatives pour les effets d'SCA, à l'exception du croisement $P_2 \times P_4$ sous 50 mM NaCl.

Tableau 17: Estimation des effets à l'aptitude générale à la combinaison (GCA) et de ses composantes.

Trait	JMV			JMS			S.F		
	S0	S1	S2	S0	S1	S2	S0	S1	S2
P1	4.69*	3.83**	3.06**	-1.33	-2.42**	-1.33	1.35	21.27**	12.18**
P2	-4.81*	-3.78**	-3.39**	1.56	0.53	0.00	-15.45**	-19.42**	-8.69**
P3	-5.08*	-3.50**	-3.06**	2.00*	2.36**	2.17*	4.35*	-13.88**	-8.79**
P4	5.19*	3.44**	3.39**	-2.22*	-0.47	-0.83	9.75**	12.03**	5.29**
S.E gi	0.92	0.27	0.16	0.53	0.40	0.44	0.78	0.66	0.42
S.E gi-gj	1.50	0.44	0.27	0.87	0.66	0.72	1.28	1.08	0.69
Trait	P.T			P.R			P.G		
	S0	S1	S2	S0	S1	S2	S0	S1	S2
P1	-6.71**	1.88	5.26**	-5.86**	0.51	2.50*	-3.60*	1.48**	1.10**
P2	1.75	-1.84	-3.34**	2.33*	-0.64	-0.65	1.94	-0.48	-0.88*
P3	-2.20	-4.23*	-9.52**	0.62	-2.79*	-2.78*	-2.30*	-1.00*	-0.59*
P4	7.16**	4.19*	7.60**	2.91*	2.92*	0.93	3.96**	0.00	0.37
S.E gi	1.07	0.92	0.53	0.70	0.85	0.65	0.63	0.21	0.16
S.E gi-gj	1.75	1.50	0.86	1.14	1.38	1.06	1.03	0.34	0.26
Trait	BT			PPH.T			F.T		
	S0	S1	S2	S0	S1	S2	S0	S1	S2
P1	-16.17**	3.87	9.14**	0.37	0.47	0.70*	0.03**	0.03	0.05**
P2	6.02*	-2.97	-5.14**	-0.39	0.62	-0.11	-0.02*	0.04*	-0.01
P3	-3.87	-8.01**	-13.17**	-1.46**	-1.68*	-1.06**	-0.06**	-0.07**	-0.06**
P4	14.02**	7.11*	9.18**	1.48**	0.59	0.47	0.05**	0.01	0.02
S.E gi	1.73	1.23	0.87	0.16	0.30	0.17	0.005	0.01	0.01
S.E gi-gj	2.82	2.00	1.43	0.26	0.49	0.28	0.01	0.02	0.01

*,** test significatif à 0.05 et 0.01 respectivement. S0: Control, S1: 50 mM NaCl, S2: 100 mM NaCl. S.E: erreur Standard.

Table 18: Estimation des effets à l'aptitude spécifique à la combinaison (SCA) et de ses composantes.

Trait	JMV			JMS			S.F		
	S0	S1	S2	S0	S1	S2	S0	S1	S2
P1xP2	-5.52*	-4.99**	-4.53**	2.71	0.32	-0.67	-31.10**	-28.14**	3.76*
P1xP3	-5.58*	-3.60**	-4.53**	1.27	1.49	1.50	12.08**	32.22**	-4.38**
P1xP4	3.81	4.46**	3.02**	-1.18	-2.34	-0.17	13.61**	-5.76*	10.75**
P2xP3	3.92	3.34**	3.91**	1.04	2.21	0.83	7.46**	-9.53**	5.01**
P2xP4	-2.36	-4.93**	-4.53**	-2.73	-3.29*	-0.83	22.91**	23.32**	-18.06**
P3xP4	-7.41*	-5.88**	-4.53**	-2.18	-1.79	-2.33	-24.92**	-2.16	-4.95**
S.E sij	2.23	0.65	0.39	1.29	0.97	1.07	1.89	1.61	1.02
S.E sij-sik	3.36	0.98	0.59	1.95	1.46	1.61	2.85	2.42	1.54
Trait	P.T			P.R			P.G		
	S0	S1	S2	S0	S1	S2	S0	S1	S2
P1xP2	4.85	6.83*	29.85**	-8.02**	1.42	3.46	-1.36	3.62**	1.30*
P1xP3	-12.47**	-0.46	9.80**	0.28	0.79	0.02	2.84	0.90	0.82
P1xP4	11.81**	-1.78	-17.55**	-0.80	2.86	0.04	2.75	1.70*	-0.71
P2xP3	-2.06	-0.67	-8.37**	7.43**	-1.62	-1.03	-7.13**	-0.03	-0.17
P2xP4	4.29	8.68**	1.11	-8.35**	6.67*	4.76*	0.91	-1.50*	-1.36*
P3xP4	7.00*	9.36**	6.23**	-2.65	3.32	3.19	4.88*	1.29*	0.48
S.E sij	2.59	2.22	1.28	1.69	2.05	1.57	1.52	0.50	0.39
S.E sij-sik	3.90	3.35	1.92	2.54	3.10	2.37	2.30	0.75	0.59
Trait	BT			PPH.T			F.T		
	S0	S1	S2	S0	S1	S2	S0	S1	S2
P1xP2	-4.53	11.86**	34.94**	-0.51	-0.96	0.89	0.004	0.02	0.005
P1xP3	-9.34**	1.24	10.97**	-0.98*	-0.29	1.77**	-0.02	-0.01	0.04
P1xP4	13.76**	2.78	-18.44**	-0.46	-0.98	-1.26*	-0.05**	-0.04	-0.04
P2xP3	-1.76	-2.32	-12.02**	-0.42	1.26	0.97	-0.002	0.03	0.04
P2xP4	-3.15	13.85**	4.84	0.38	1.23	0.01	0.03	0.06*	-0.001
P3xP4	9.24*	13.96**	10.23**	1.34*	-2.17*	-0.94	0.005	-0.06	-0.04
S.E sij	4.19	2.97	2.12	0.39	0.73	0.41	0.01	0.02	0.02
S.E sij-sik	6.31	4.48	3.19	0.59	1.10	0.62	0.02	0.04	0.03

*,** test significatif à 0.05 et 0.01 respectivement. S0: Control, S1: 50 mM NaCl, S2: 100 mM NaCl. S.E: erreur Standard.

Des valeurs significativement positives d'effet d'GCA ont été notées pour la S.F pour le parent P₄ (Améliore roza) dans toutes les conditions alors que les parents P₁ (Coco nain) et P₃ (Amina) ont montré des valeurs significatives dans des conditions salines et non-salines. Pour les effets d'SCA, des valeurs positives et négatives significatives ont été enregistrées pour tous les croisements dans toutes les conditions, la valeur positive la plus élevée était affichée par le croisement P₁xP₃ sous 50 mM NaCl.

Pour P.T, le parent P₄ présentait des effets d'GCA positifs et très significatifs dans toutes les conditions, tandis que le P₁ montre une valeur significative et positive seulement sous le traitement 100 mM NaCl. En revanche, le croisement P₃xP₄ a montré des effets d'SCA significatifs et positifs dans toutes les conditions et le croisement P₁xP₂ a enregistré des valeurs positives et significatives uniquement dans des conditions salines, tandis que les croisements P₁xP₃ P₂xP₄ et P₁xP₄ ont montré des effets d'SCA positifs très significatifs sous 100, 50 et 0 mM NaCl respectivement.

Le parent P₄ a enregistré les effets positifs de l'GCA les plus élevés pour P.R sous 0 et 50 mM NaCl, alors que les parents P₁ et P₂ (MGT) ont respectivement exhibé des valeurs positives et significatives sous les traitements 100 mM NaCl et 0 mM NaCl, en même temps, l'hybride P₂xP₄ a montré des valeurs positives pour les effets d'SCA dans des conditions salines uniquement.

Concernant les effets de l'GCA pour la BT, le parent P₄ a enregistré les valeurs positives et significatives les plus élevées dans toutes les conditions, tandis que les parents P₁ et P₂ ont respectivement affiché des effets d'GCA significatifs sous 100 et 0 mM NaCl. Par rapport aux effets d'SCA, l'hybride P₃xP₄ présentait des valeurs positives et significatives dans toutes les conditions, alors que le croisement P₁xP₂ présentait des valeurs positives et significatives en conditions salines, les croisements P₁xP₄ et P₂xP₄ ont exhibé des effets d'SCA positifs et significatifs respectivement sous les traitements 0 et 50 mM NaCl.

Pour le contenu phénolique total, seuls les parents P₁ et P₄ ont montré des effets d'GCA positifs et significatifs sous les traitements 100 et 0 mM NaCl respectivement. Alors que l'hybride P₃xP₄ a enregistré des effets d'SCA positifs et significatifs dans des conditions non salines.

Pour la teneur en flavonoïdes totaux, des effets de l'GCA positifs et significatifs ont été notés pour le parent P₁ sous des conditions non-salines et sous le traitement 100 mM

NaCl, tandis que les parents P₂ et P₄ ont également montré des effets significatifs et positifs respectivement dans des conditions non salines et sous le traitement 50 mM NaCl ; en revanche, selon les effets d'SCA, seul le croisement P₂xP₄ a enregistré une valeur significativement positive dans des conditions salines (50 mM NaCl).

4.5.4 L'héritabilité des traits sous étude :

Les estimations de l'héritabilité au sens large (h_{bs}^2 %) et de l'héritabilité au sens étroit (h_{ns}^2 %) évaluées sous chaque niveau de traitement salin sont présentées dans le tableau 18.

L'héritabilité au sens large (h_{bs}^2 %) était plus élevée dans les conditions salines pour les JMV et la BT, on observe que l'héritabilité augmente à mesure de l'augmentation des taux de salinité ; par contre pour le P.R, l'héritabilité diminue à mesure que le taux de salinité augmente, sous le traitement 50 mM NaCl, les JMS (74,49%), la S.F (99,03%) et le P.G (84,64) ont exhibé des valeurs d'héritabilité élevées, tandis que dans des conditions normales, le P.R (83,55%), les PPH.T (84,62%) et les F.T (89,89%) ont enregistré les plus hautes valeurs. Sous des conditions salines élevées (100 mM d'NaCl), les JMV (98,54), le P.T (97,90) et la BT (96,47%) ont présenté les valeurs d'héritabilité au sens large les plus élevées.

L'héritabilité au sens étroit (h_{ns}^2 %) était plus élevée dans les conditions normales pour le P.R (42,19%), la BT (64,45%), les PPH.T (68,23%), et les F.T (81,46%), alors que le trait de la S.F (61,58%) a affiché la valeur la plus élevée sous des conditions salines modérées (50 mM NaCl) ; en même temps, sous des conditions salines élevées (100 mM d'NaCl), l'héritabilité augmente à mesure que le niveau de salinité augmente pour les JMV, les JMS et le P.T. L'héritabilité au sens étroit a montré des valeurs faibles par rapport à l'héritabilité au sens large.

Tableau 19 : Estimation de l'héritabilité au sens large et étroit.

Traits	Héritabilité au sens large h_{bs}^2 %			Héritabilité au sens étroit h_{ns}^2 %		
	S0	S1	S2	S0	S1	S2
JMV	79.82	96.86	98.54	55.89	56.92	59.24
JMS	60.37	74.49	49.60	34.31	38.08	44.85
S.F	97.23	99.03	98.53	33.75	61.58	59.73
P.T	81.62	75.17	97.90	19.84	26.31	39.93
P.R	83.55	53.51	60.58	42.19	3.72	27.69
P.G	79.31	84.64	77.48	46.59	10.56	51.27
B.T	83.86	84.27	96.47	64.45	26.37	42.18
PPH.T	84.62	59.43	76.19	68.23	39.07	52.39
F.T	89.89	71.93	75.12	81.46	48.60	64.08

S0: control; S1: 50 mM NaCl; S2: 100 mM NaCl.

5. Interprétation :

5.1 L'évaluation phénotypique :

5.1.1 Les traits phénologiques et physiologiques :

Le stress salin est un facteur environnemental majeur qui empêche les plantes d'atteindre leur plein potentiel génétique, chez le haricot, espèce non-halophyte la salinité induit de grandes limitations de croissance (Gama et al., 2007).

Toutes les analyses statistiques étaient hautement significatives pour tous les traits étudiés et dans toutes les conditions salines et non-salines ; l'interaction génotypes x conditions expérimentales est indispensable pour la suite de l'étude d'analyse diallèle (Chapitre 5).

Les génotypes parentaux et leurs hybrides F_1 ont montré plus ou moins de susceptibilité en réponse au stress salin, cette réponse est un mélange complexe d'expression génétique, phénologique et physiologique; les génotypes parentaux P_1 (Coco Nain) et P_4 (Améliore Roza) ainsi que les hybrides $P_3 \times P_4$ (Amina x Améliore Roza), $P_2 \times P_4$ (MGT x Améliore Roza) et $P_1 \times P_3$ (Coco Nain x Amina) ont montré une tolérance relative à la salinité d'une manière générale, cette tolérance s'est exprimée par une réduction conséquente du temps de maturation des gousses, en effet plus le cycle de vie de la plante est court moins cette dernière est confrontée au stress dû au sel ce qui limite grandement les dommages occasionnés par ce dernier ; de tels résultats ont été reportés par Boutraa et Sanders (2001).

Le croisement $P_1 \times P_2$, en plus des génotypes cités plus haut, enregistrent les meilleurs valeurs pour les caractères physiologiques ; la surface foliaire conditionne grandement l'état de la plante, la photosynthèse étant indispensable pour toute activité métabolique de la plante ; de plus, La surface foliaire est proportionnelle à celle de la biomasse produite, moins celle-ci est importante plus la biomasse est réduite, de ce fait l'exclusion du Na^+ toxique au niveau de la racine et du xylème est un fort indicateur de tolérance, cette exclusion protège les tissus photosynthétiques des feuilles induisant une plus importante production de la biomasse racinaire, caulinaire et fructifère (Gupta et Huang, 2014).

Dans notre étude nous avons remarqué que là où les deux parents P_1 (Coco Nain) et P_4 (Améliore Roza) ont été impliqués dans un croisement, les hybrides résultants exhibent *de facto* une tolérance relative, parfois même supérieure à celle de leurs parents respectifs, affichant une hétérosis hautement significative.

Ces résultats démontrent la présence d'une variabilité génétique importante entre les différents génotypes parentaux et leurs hybrides. Cette variabilité peut faciliter l'amélioration génétique et générer des hybrides tolérants à la salinité en utilisant un tel matériel génétique

de haricot commun. Ces résultats sont en accord avec les résultats précédents pour le haricot commun et d'autres cultures (Cabot et al., 2009 ; Talaat 2015 ; Agbahoungba et al., 2018).

5.1.2 Les traits phytochimiques :

L'exposition des plantes à la salinité entraîne une production accrue d'espèces réactives d'oxygène comme sous-produits, qui endommagent les composants cellulaires (Van Breusegem and Dat, 2006). En réponse à la salinité les plantes ont développé des systèmes de désintoxication pour contrer les espèces réactives de l'oxygène, et protéger les cellules contre les dommages oxydatifs.

Les composés phénoliques jouent des rôles multiples dans les plantes, en tant que composants structuraux des parois cellulaires, participant à la régulation des processus de croissance et de développement, ainsi qu'aux mécanismes de défense contre le stress biotique et abiotique (Cheynier et al., 2013). Les flavonoïdes représentent le sous-groupe principal et le plus complexe des polyphénols avec un large éventail de fonctions biologiques, y compris l'inhibition de la peroxydation lipidique (Di Ferdinando et al., 2012).

Nos résultats démontrent une corrélation très significative entre la production des métabolites secondaires et réponse au stress salin ; des hybrides très prometteurs ont vu leurs productions de polyphénols et de flavonoïdes totaux augmenter avec l'augmentation des taux de salinités, ces mêmes hybrides ont affiché les meilleurs résultats pour les traits phénologiques et physiologiques, ce qui est une évidence du rôle primordial des métabolites secondaires sous stress salin biotique et abiotique.

De plus nos résultats confirment notre première observation phénotypique. En effet le parent Amina a enregistré des valeurs nulles pour la production de métabolites secondaires exhibant une couleur d'enveloppe blanche, ce qui c'est traduit par autant de mauvaises valeurs pour les traits physiologiques et phénologiques en milieu salin. Par ailleurs le parent MGT a exhibé des valeurs moyennes par rapport aux deux parents Coco nain et Améliore roza, exhibant les meilleurs résultats pour tous les caractères étudiés.

Plusieurs hybrides ont enregistré des valeurs plus élevées que leurs parents respectifs, l'effet d'hétérosis est donc très important dans ces croisements, de plus certains hybrides associent plusieurs traits intéressants de deux parents contrastés comme est le cas pour les croisements avec le parent P₂ (MGT) où le taux des flavonoïdes augmente au lieu de baisser sous stress salin, ce qui indique une très grande héritabilité du trait, et donc une investigation d'analyse génétique nécessaire pour mieux comprendre ces mécanismes de défense.

5.2 L'analyse diallèle, les effets d'hétérosis et l'héritabilité des traits sous stress salin :

5.2.1 Les aptitudes à la combinaison :

La variance due à l'GCA contient un effet épistasique additif, tandis que la variance due à l'SCA contient des effets non additifs (Griffing, 1956). L'analyse de la variance pour l'GCA et l'SCA était hautement significative pour tous les caractères dans toutes les conditions. Ces résultats confirment que les gènes additifs et non additifs ont été impliqués dans le contrôle de ces caractères à travers tous les génotypes du haricot commun. D'autre part, les effets de l'GCA constituent un critère approprié pour détecter la validité du génotype en combinaison hybride, tandis que les effets d'SCA peuvent être liés à l'hétérosis (Harriman and Nwammadu, 2016). Nos résultats ont révélé que les effets de l'GCA pour les caractères étudiés sont liés à plusieurs valeurs de l'SCA des croisements correspondants, i.e, là où les deux parents P_1 et P_4 étaient impliqués, les croisements produits, à savoir $P_3 \times P_4$, $P_2 \times P_4$ ont exprimé des effets d'SCA positifs et hautement significatifs, cela peut indiquer que les systèmes génétiques additifs et non additifs présents dans les croisements agissent dans la même direction pour maximiser les traits en vue (Ghareeb and Helal, 2014), ces résultats ont confirmé ceux trouvés par (Arunga et al., 2010 ; Trindade et al., 2011 ; Bi Y et al., 2015 ; Senbetay and Varieties, 2015 ; da Silva et al., 2017), alors qu'ils contredisent partiellement ceux rapportés par (Iqbal et al., 2012 ; Ceyhan et al., 2014) où ils ont trouvé des carrés moyens significatifs de l'aptitude générale et spécifique à la combinaison avec la prépondérance de la composante SCA dans leurs études génétiques sur le haricot commun. Le rapport GCA / SCA était supérieur à l'unité (1) sous tous les niveaux de salinité; on peut en déduire que la contribution de l'action génique additive dans l'expression génétique des caractères étudiés est supérieure à l'action génique non additive (dominante). Ces résultats sont en accord avec ceux d'Islam et al., 2006 et d'Atnaf, 2013.

5.2.2 Les effets d'hétérosis :

L'hétérosis est un phénomène complexe et intrigant, c'est le résultat de l'action de l'ensemble de la diversité génétique, des modes d'interactions et des processus agissants à différents niveaux systémiques et à différents stades de développement d'un organisme (Khotyleva et al. 2017). Nos résultats indiquent une hétérosis très significative du parent moyen (MP) et du meilleur parent (BP) dans des conditions salines et non-salines. Une hétérosis et une hétérobeltosis relativement plus élevées pour les caractères étudiés ont été observées chez des hybrides chez lesquels les génotypes parentaux P_1 et P_4 étaient impliqués.

De plus, une performance hétérotique élevée a été notée pour les croisements $P_3 \times P_4$ et $P_2 \times P_4$, alors que le croisement $P_1 \times P_3$ a montré des performances hétérotiques élevées pour les conditions salines. Ces observations suggèrent que les parents P_1 et P_4 et les croisements cités ci-dessus pourraient être exploités comme ressources génétiques pour l'amélioration du *P. vulgaris* en milieu salin. Plusieurs chercheurs ont signalé un pourcentage hétérotique significatif par rapport aux MP et aux BP pour les cultures de haricot et d'autres cultures (Gonçalves-Vidigal et al., 2008 ; Mukankusi et al., 2011 ; Tiruneh et al., 2013; Ceyhan et al., 2014; Bi Y et al., 2015).

5.2.3 L'héritabilité :

L'héritabilité au sens large était élevée pour les conditions non salines et les conditions salines pour tous les caractères étudiés, ce qui indique l'implication de variances additives et non additives ayant une faible influence des effets environnementaux. L'héritabilité au sens étroit est considérée comme un outil efficace pour l'amélioration de tout caractère (Falconer, 1981). Nos résultats ont enregistré des valeurs d'héritabilité modérées à élevées pour les caractères associés à la tolérance à la salinité, ce qui est très intéressant, en effet ces caractères vont être transmis à grande échelle chez les hybrides rendant la sélection de variétés tolérantes plus efficace ; nos résultats sont partiellement différents des résultats d'autres cultures (da Rosa et al., 2010 ; Emam et al., 2010 ; Rao et al., 2012 ; hannachi et al., 2013 ; Mohammadi et al., 2014).

6. Conclusion :

Les résultats obtenus dans ce chapitre sont en accord avec ceux du chapitre 2, en effet les génotypes parentaux Coco nain et Améliore roza enregistrent les meilleures performances pour tous les traits phénologiques et physiologiques étudiés, ainsi que les hybrides où ces deux derniers génotypes ont été impliqués. Ainsi les parents et les hybrides ayant obtenu les meilleurs résultats pour les traits phytochimiques ont montré les meilleures performances pour les caractères phénologiques et physiologiques ; en effet la production élevée des polyphénols totaux et des flavonoïdes joue un rôle essentiel contre les dommages oxydatifs causés par les espèces réactives d'oxygène notamment les radicaux libres, ce qui a pour cause une meilleure stabilité structurelle de la plante qui se traduit par de meilleures performances de rendement.

Plusieurs hybrides ont exhibé des valeurs élevées de productions des métabolites secondaires en milieu salin, et même si le rendement diminue occasionnant des pertes

économiques ; ces pertes peuvent être compensées par la production de graine de qualité, très riches en composés antioxydants pouvant être commercialisées sur le marché. La supériorité de certains hybrides par rapport à leurs parents suggère un effet d'hétérosis très important, ces hybrides peuvent être développés comme de nouvelles variétés tolérantes à la salinité.

Ces résultats montrent qu'il existe une différence génétique considérable entre les quatre géotypes pour la tolérance à la salinité; cette tolérance est génétiquement exprimée par une action génique à la fois additive et non additive contrôlant les différents traits phytochimiques, physiologiques et phénologiques avec une prépondérance des effets additifs. Les géotypes Améliore roza et Coco nain sont de bons combineurs généraux pour relativement plus de traits sous différents traitements de salinité. Les croisements Amina x Améliore roza, MGT x Améliore roza et Coco nain x Amina ont montré une bonne aptitude spécifique à la combinaison et une hétérosis pour la plupart des caractères sous différents niveaux de salinité.

En conclusion, les présents résultats ont révélé que plusieurs des croisements obtenus sont très prometteurs pour être utilisés dans des programmes de sélection de cultivars du haricot commun, et qui possèdent de forts potentiels génétiques pour la tolérance à la salinité et l'amélioration de la qualité nutritionnelle du haricot.

Chapitre 4

Analyses génétiques par des marqueurs moléculaires : SSRs et SNPs

1. Introduction :

Les SSRs sont des séquences d'ADN répétées composées de 1 à 6 nucléotides qui se trouvent dans les génomes procaryotes et eucaryotes (Tóth et al., 2000). Ils se caractérisent par leur transmission codominante (les hétérozygotes peuvent être distingués des homozygotes), une large distribution génomique, un polymorphisme élevé, hypervariable, et de nature informative, fournissant un modèle considérable, avec une couverture génomique uniforme, un taux de mutation plus élevé que la norme et une préparation facile des échantillons (Abdul-Muneer, 2014; Senan et al., 2014).

Un nombre croissant de marqueurs SSRs sont disponibles pour le haricot, ce qui permet de mettre en œuvre des études comme la diversité génétique et la structure des populations du germoplasme cultivé et sauvage, ainsi que des expériences de cartographie génétique axées sur l'identification des QTLs pour les stresses biotiques et abiotiques (Müller et al., 2014). Les SSRs ont également été utilisés pour évaluer la diversité intra-spécifique au sein du genre *Phaseolus* (Gaitán-Solís et al., 2002).

Les SNPs confèrent les mêmes possibilités d'analyse que celles des SSRs mais contrairement aux microsatellites, leur puissance ne provient pas du nombre d'allèles mais du grand nombre de locus pouvant être évalués (Foster et al., 2010).

L'objectif de notre travail est l'analyse moléculaire de la diversité génétique et la structure des populations chez les différentes accessions des haricots issus du croisement diallèle, afin de déterminer les différences et les similitudes qui existent entre elles ; et de trouver les marqueurs génétiques associés à des gènes majeurs de la tolérance à la salinité pour les caractères étudiés, notamment les caractères de production de métabolites secondaires ; et également de faire le choix le plus adéquat des accessions génétiquement éloignées et complémentaires, dans les programmes d'amélioration variétale sous stress salin pour la production des RILs essentielles à la recherche des QTLs et d'autres analyses de sélection variétale.

2. Matériel et méthodes :

2.1 Le matériel végétal :

2.1.1 La préparation des populations et l'évaluation phénotypique :

Les hybrides F₁ ont été plantés durant la seconde période de la saison estivale de 2016, aucune intervention n'a été faite permettant ainsi une autofécondation de ces dernières. Toutes les graines issues du croisement demi-diallèle ont fait l'objet d'une manipulation identique à celles des précédentes plantations : préparation du terrain, ajout d'engrais naturel, germination

en chambre de germination, désherbage et lutte biologique contre les insectes. Les hybrides F_1 ont permis de donner des hybrides F_2 .

Les quatre parents, les hybrides F_1 et les hybrides F_2 ont été plantés durant le printemps de 2017 à la Tennessee State University Greenhouse, USA ; et les évaluations phytochimiques, physiologiques et phénologiques ont été procédées comme déjà traité dans le chapitre 3.

2.1.2 La sélection des génotypes pour l'évaluation génotypique :

L'extraction d'ADN a été faite selon le schéma 7 ; pour chaque parent et pour chaque hybride F_1 , un seul génotype a fait l'objet d'une extraction. En effet les parents sont complètement homozygotes (chapitre 2) et les hybrides F_1 complètement hétérozygotes, d'où l'utilisation d'un seul génotype (les différents génotypes ne diffèrent pas les uns des autres génétiquement parlant). Par contre chez la génération $F_{1:2}$ après l'autofécondation tous les descendants ne sont pas génétiquement identiques, ceci implique l'investigation de plusieurs génotypes différents de la même population, ainsi quatre extractions ont été faites pour tous les hybrides F_2 à l'exception de l'hybride $P_1 \times P_3$ où 18 extractions ont été opérées. Le choix de cet hybride repose essentiellement sur les performances de leurs parents et de la génération F_1 déjà évaluées (chapitre 3); ce sont les parents avec l'expression phénotypique la plus contrastée pour la tolérance à la salinité et la production de polyphénols, condition essentielle pour la création de population de cartographie (Kalaisekar et al., 2017). Et donc 56 génotypes ont été retenus pour notre étude.

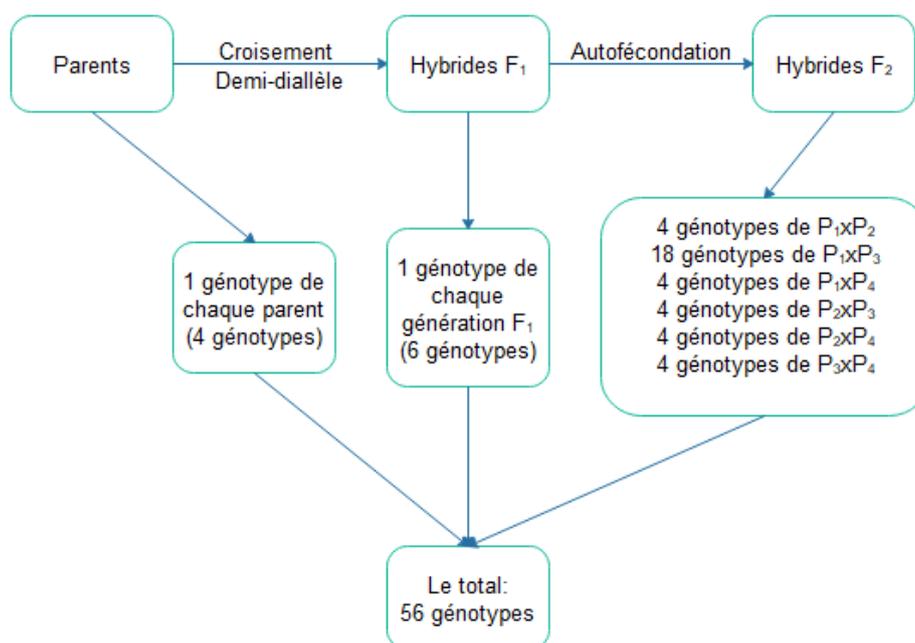


Schéma 7 : Sélection des génotypes pour l'étude génétique.

2.2 Les extractions d'ADN :

L'ADN génomique est extrait pour chaque génotype (comme expliqué précédemment) selon les méthodes de Heffelfinger et al., (2014) et de Freeling and Walbot, (1996) ; à partir de jeunes plantules et dès l'apparition des premières trifolioles, des échantillons de 10 à 15g ont été pris puis plongés dans de l'azote liquide (-195,79 °C) durant le transport pour éviter toute dégradation de l'ADN, puis ils ont été stockés dans un congélateur à -86°C, pour des analyses ultérieures.

Dans des tubes Eppendorf, une solution tampon d'extraction contenant : 30 ml de PVP ; 8.30g d'UREA ; 2.3 ml d'EDTA ; 2.3 ml de Tris ; 2.3 ml N-LS sodium et 1.15 ml de Na₂SO₄ ; a été ajoutée aux échantillons ; les tubes ont été mis dans un bain-marie à 65° durant 5 min ; ensuite ils ont été broyés dans une machine spécialisée. Puis 500 µl de chloroforme : phénol (1 : 1) ont été ajoutés dans chaque tube et centrifugé à 5000 tpm pendant 5 min ; le surnageant est récupéré et mis dans 600 µl d'isopropanol, les échantillons sont stockés durant la nuit à -20°C. Après avoir enlevé l'isopropanol les échantillons ont été rincés à l'aide de l'éthanol à 80%, puis de l'ARNase a été ajoutée, les échantillons sont remis dans un bain-marie pendant 2h. L'ADN a été quantifié à l'aide du NanoDrop Spectrophotometer ND-1000. Tous les tubes ont montré des valeurs proches du ratio 1.8 qui est généralement accepté comme pur pour l'ADN.

2.3 L'amplification par PCR pour les SSRs :

57 SSRs ont été choisis pour notre étude ils étaient développés par (Blair et al., 2003, 2006a, 2006b, 2008, 2009a, 2009b, 2010, 2011, 2013 ; Gaitán-Solís et al., 2002 ; Córdoba et al., 2010; Galeano et al., 2011.), ils couvrent tout le génome de nos génotypes ($2n = 22$), 5 SSRs sont localisés sur chaque chromosome (linkage group ; LG), sauf le chromosome 1 et 11 où 6 SSRs sont déployés, les deux chromosomes renferment plusieurs loci liés aux stress abiotiques i.e, déficit hydrique, (Darkwa et al., 2016; Villordo-Pineda et al., 2015). Le tableau 20 nous montre les différents SSRs et leurs répartitions.

Tableau 20 : les différents SSRs et leurs répartitions sur le génome.

LG	Marker	Left (Forward) Primer	Right (Reverse) Primer	Motif	Min size (bp)	Max size (bp)
LG1	BMd10	GCTCACGTACGAGTTGAATCTCAG	ATCTGAGAGCAGCGACATGGTAG	GA	138	144
	PV-ag003	TCACGTACGAGTTGAATCTCAGGAT	GGTGTCGGAGAGGTTAAGGTTG	AG	157	168
	BM200	TGGTGGTTGTTATGGGAGAAG	ATTTGTCTCTGTCTATTCCTTCCAC	AG	227	295
	BM213	AACCCTAAGCTTCACGCATTTG	GAGAGATTGACGACGGTTT	CTT	154	
	ATA234	TTT TTC TTA GAA AGT GGC GT	AGT AAG GCA AAG TTT TTG GC	(TAA)7	234	
	ME01	ATA CGA GGT TAG CCT AAA TC	ATT CAC CGT CAA ACT CGC AA	(AT)12	169	
LG2	BM236	GCTGAAAAGAGGAGGTCGAA	GGACTTGCCAGAAGAACTGC	(GA) ₂₅	130	
	BM143	GGGAAATGAACAGAGGAAA	ATGTTGGGAACCTTTTAGTGTG	GA	143	
	BM152	<i>AAG AGG AGG TCG AAA CCT TAA ATC G</i>	<i>CCG GGA CTT GCC AGA AGA AC</i>		80	138
	GATs91	GAGTGCGGAAGCGAGTAGAG	TCCGTGTTCCCTCTGTCTGTG	GA	210	275
	ATA76	GAT CTA ATT TTT TGC TTC TT	TGC TAT TAT ATT CCT TTT CA	(TAA)12 (N)29 (TA)8	198	
LG3	BM172	<i>CTG TAG CTC AAA CAG GGC ACT</i>	<i>GCA ATA CCG CCA TGA GAG AT</i>		82	110
	Bmd36	CATAACATCGAAGCCTCACAGT	ACGTGCGTACGAATACTCAGTC	TA	168	
	BM181	<i>ATG CTG CGA GTT AAT GAT CG</i>	<i>TGA GGA GCA AAC AGA TGA GG</i>		145	200
	Bmd1	CAAATCGCAACACCTCACAA	GTCGGAGCCATCATCTGTTT	AT	165	
	AG1	CATGCAGAGGAAGCAGAGTG	GAGCGTCGTCGTTTCGAT	(GA)8GGTA(GA)5GGGGACG(AG)4	132	
LG4	ATA20	GCA TTG CAG GAA ATC AT	TGT ATC AAT TAC TTT TTT AC	(TAA)72	293	
	BM199	AAGGAGAATCAGAGAAGCCAAAAG	AAGGAGAATCAGAGAAGCCAAAAG	GA	304	
	BMc284	CCCTATTTATCTGCAAATTCACGAG	GGGAGTGTAGATCAAGAGATTAAG	CA ;TA	189	
	PV-CTT001	GAGGGTGTTCCTACTATTGTCCTGTC	TTCATGGATGGTGGAGGAACAG	CTT	152	
	BM140	TGCACAACACACATTTAGTGAC	CCTACCAAGATTGATTTATGGG	GA	190	
LG5	ATA289	GGA TGT ATT GCC CAA AAT TA	TTG GGG CAC TTA TAA TTT GA	(TAT)2(AAT)12	235	265
	BM175	CAA CAG TTA AAG GTC GTC AAA TT	CCA CTC TTA GCA TCA ACT GGA		160	195
	Bmd20	GTTGCCACCGGTGATAATCT	GTGAGGCAAGAAGCCTTCAA	TA	123	
	BMc321	CTTTCACCTTCACTTGTGGTTCC	TGTTCCACTATCTCCCTGTTCA	(CT)13	96	
	BM155	GTTTCATGTTTGTGTTGACAGTTCA	CAGAAGTTAGTGTTGGTTTGATACA	CA	114	
LG6	Bmd37	GGCACGAGCAACAATCCTT	CCATCATAGAGGGCAACCAC	AC	134	
	BM278	CCAAGGTACATCTCAAGCAA	TCAATCACATACATCACATATAATTCA	(AT) ₁₈	253	

	BM137	CCGTATCCGAGCACCGTAAC	CGCTTACTCACTGTACGCACG	CT	155	
	BM187	TTTCTCCAACCTCACTCCTTTCC	TGTGTTTGTGTTCCGAATTATGA	CT	191	
	BM170	AGCCAGGTGCAAGACCTTAG	AGATAGGGAGCTGGTGGTAGC	CT	179	
LG7	BM160	CGTGCTTGGCGAATAGCTTTG	CGCGGTTCTGATCGTGACTTC	GA	211	
	BM185	AAGGAGGTTTCTACCTAATTCC	AAAGCAGGGATGTAGTTGC	CT	105	
	BMd40	AACCTTCTTGCGCTGATCTC	TAGTGGCCATTCTCGATCT		197	
	BM209	CAACCAATGAATGCTGACAATG	CAATTTCTTGATTGAAAGGCAAT	TA	129	
	BM183	CTCAAATCTATTCCTGGTCAGC	TCTTACAGCCTTGCAGACATC	TC	149	
LG8	BM211	ATACCCACATGCACAAGTTTGG	CCACCATGTGCTCATGAAGAT	CT	186	
	BM151	CACAACAAGAAAGACCTCCT	TTATGTATTAGACCACATTACTTCC	TC	153	
	BM153	CCGTTAGGGAGTTGTTGAGG	TGACAAACCATGAATATGCTAAGA	CA	226	
	BM165	TCAAATCCCACACATGATCG	TTCTTTCATTATCATATTATCCGTTCA	TA	177	
	BM189	CTCCCCTCTCACCTCACT	GCGCCAAGTGAAACTAAGTAGA	CT	114	
LG9	BM141	TGAGGAGGAACAATGGTGGC	CTCACAAACCACAACGCACC	GA	218	
	BM114	AGCCTGGTGAAATGCTCATAG	CATGCTTGTGCCTAACTCTCT	TA	234	
	PV-AT007	AGTTAAATTATACGAGGTTAGCCTAAATC	CATTCCTTCACACATTCACCG	AT	192	
	BMc292	CCTTATTATACTTGTGGTCTCTCTCTC	CGAGGATGAACAGAGCATGA	TC	290	
	CAC1	ACA AAC AAT TAT AAA GAG TG	GTT GAG TGA ACC AAT ATA AA	(GA) ₃₁ (2)	112	
LG10	BM157	ACTTAACAAGGAATAGCCACACA	GTTAATTGTTTCCAATATCAACCTG	GA	113	
	BM212	AGGAAGGGATCCAAAGTCACTC	TGAACTTTCAGGTATTGATGAATGAAG	CA	214	
	ATA150	AGA GAG AAA AAA TGA AGA GA	CGT CCT CAT AAA CAA TAA TA	(TAT) ₁₁	180	210
	BMd42	TCATAGAAGATTTGTGGAAGCA	TGAGACACGTACGAGGCTGTAT		149	
	ATA71	TTC AAT TGA CTT GAA GGT CAG G	AAT AAC CCC AAA CTG AGA TAA A	(ATT) ₁₀	193	
LG11	BMd41	CAGTAAATATTGGCGTGGATGA	TGAAAGTGCAGAGTGGTGGGA		250	
	BM205	CTAGACCAGGCAAAGCAAGC	TGAGCTGGGATTTTCATTTCTG	GT	137	
	ATA180	ATT ATT TTA TCA TGG ATG AA	AAA TTT CAA AAG AAA AAT AC	(TAA) ₁₁	212	250
	PV-at001	GGGAGGGTAGGGAAGCAGTG	GCGAACCACGTTTCATGAATGA	TA	239	
	ATA6	TGA TTT GTC TAA CAC TTC AC	GGA GAT GAT TTG CAT GTA G	(TAT) ₁₉	143	
	BM239	CTGCTACTACTCCCCTACTTCA	ATGTAAGCCATTCCCTCTTC	(TC) ₁₂	113	

L'amplification de l'ADN génomique a été faite, selon la technique adoptée par Heffelfinger et al., (2014) dans une réaction PCR de 15 µl contenant 50 ng d'échantillon d'ADN ; 6.1 µl d'eau ultra distillée ; 2 µl de tampon PCR 1x ; 2 µl de MgCl₂ ; 0.3 µl de dNTPs ; 0.3 µl primer Forward ; 0.3 µl primer reverse ; BSA 0.5 µl et 1 unité de taq polymérase. Le programme d'amplification (Touchdown polymerase chain reaction) comprend une période initiale de la dénaturation de l'ADN et l'activation de la Taq polymérase à 94°C pendant 5 min, suivie d'un cycle de 3 phases : 92°C durant 30 s, 49°C pendant 30 s et 72°C pendant 1 min suivie de 30 cycles avec 3 phases : 92 °C durant 30 s, touchdown de 60°C à 51°C durant 30 s diminuant de 0.6°C par cycle, et 72°C durant 1 min. L'extension finale est faite à 72°C durant 5 min puis à 10°C à l'infini. Les produits PCR sont analysés en gel continu de polyacrylamide 6% dénaturant. Après électrophorèse, les bandes d'ADN sont colorées avec le bromure d'éthidium (BET) et visualisées sous UV.

2.4 L'amplification par PCR pour les SNPs :

14 SNPs ont été choisis selon leurs positions sur les chromosomes 1 et 11 (Darkwa et al., 2016; Villordo-Pineda et al., 2015), 7 SNPs répartis le long de chaque chromosome. Le tableau 21 nous montre les différents SNPs utilisés dans notre étude.

Tableau 21 : les différents SNPs et leurs répartitions.

N°	LGC_SNP ID/autre nom	LG	LGPos(cM)	Source	Séquences
1	ln1003704_630844	1	100.831	Kidney SNPs	..ATA[A/T]AAT..
2	ln674865_383201	1	96.928	Kidney SNPs	..GTA[G/C]CTT..
3	ln2130026_591835	1	120.801	Durango SNPs	..TCC[A/T]ACA..
4	ln267883_246781	1	26.849	Durango SNPs	..AAC[T/A]ATT..
5	ln2130026_1665755	1	111.763	Kidney SNPs	..ATA[A/T]AAA..
6	BARC-PV-0001925	1	72.567	Durango	..TTT[T/G]ACT..
7	BARC-PV-0002838	1	14.281	Durango	..ACA[A/T]AAA..
8	BARC-PV-0005586	11	58.709	Kidney SNPs	..AGA[C/G]GAG..
9	ln178849_71132	11	58.151	Durango SNPs	..TGC[G/C]GTC..
10	BARC-PV-0000819	11	63.059	Durango	..GCC[A/G]ATG..
11	BARC-PV-0000909	11	17.38	Kidney	..GGC[C/G]TTG..
12	BARC-PV-0003108	11	78.908	Kidney	..CCG[A/G]TAA..
13	BARC-PV-0002061	11	28.439	Durango	..TGA[A/G]TCA..
14	BARC-PV-0005793	11	103.712	Durango	..GTG[T/C]TGG..

L'amplification de l'ADN génomique a été faite, selon la Kompetitive Allele Specific PCR (KASP) développée par LGC genomics (www.lgcgenomics.com), (Semagn et al., 2014). Une réaction PCR de 10 µl contient 50 ng d'ADN ; 2 µl d'eau ultra distillée ; 5 µl de Master

Mix (Primers et tampon PCR). Une activation par démarrage à chaud à 94°C durant 15 min est nécessaire, suivie de 10 cycles en deux phases : 90°C durant 20 s, puis 61°-55°C pendant 1 min diminuant de 0.6°C par cycle, suivie de 26 cycles en deux phases : 94°C pendant 20 s puis 55°C durant 1 min. la 96 template est ensuite mise à la lecture dans le kluster caller.

2.5 L'analyse des données :

Les performances de toutes les populations (Les parents et la F₁ déjà évalués dans les chapitres précédents en plus de la F₂) ont été analysées par une analyse factorielle (Analyses de composantes principales ; ACP), en utilisant XLSTAT v.2018.1 ; sous les différentes conditions de l'expérimentation.

2.5.1 L'analyse des microsatellites :

L'analyse des gels polyacrylamide après électrophorèse des différents produits de la PCR a été effectuée. La présence des fragments a été déterminée visuellement et introduite dans une matrice de données binaires (0/1) présence (1) ou absence de la bande (0). Un arbre phylogénétique a été construit en utilisant Neighbor-Joining algorithm avec 3000 bootstrap, et une analyse factorielle de la matrice génétique. Une analyse de coordonnées principales (PCoA) a été effectuée pour mettre en évidence les dissimilarités de la matrice.

Pour chaque locus, la composition des allèles SSR est déterminée pour chaque génotype. Les valeurs du contenu d'information sur le polymorphisme (PIC) ou « Polymorphism Information Content » a été calculé, ainsi que la diversité génétique en utilisant les *F*-statistics qui regroupent : le Shannon's diversity index ou Information index (Rosenzweig, 1995) ; hétérozygoté attendu ou diversité génétique. Et la distance génétique de la population par Nei, (1987).

Ces analyses ont été effectuées par l'intermédiaire du programme d'analyse génétique Darwin version 6.

2.5.2 L'analyse à un seul marqueur :

Une analyse à un seul marqueur (SMA) ou « Single marker analysis » (David et al., 2011), a été réalisée en utilisant les données génotypiques de la matrice ainsi que les données phénotypiques de la population F₂ et les effets de l'GCA (effet de l'aptitude général à la combinaison des parents (Chapitre 3) pour identifier la tolérance potentielle à la salinité associée aux marqueurs SSR. La méthode de régression linéaire simple a été utilisée avec l'équation suivante:

$$y = b_0 + b_1x + e$$

Où, *y* = valeur de caractère phénotypique; *b*₀ = moyenne de la population; *b*₁*x* = fonction du marqueur moléculaire et *e* = erreur.

La relation potentielle entre le marqueur et le caractère a été établie en considérant la signification du coefficient de régression à une probabilité de 5%. La variance phénotypique expliquée a été exprimée en termes de valeurs R^2 ajustées. L'analyse SMA a été effectuée en utilisant XLSTAT v.2018.1.

2.5.3 L'analyse des SNPs :

Le produit PCR est mis directement dans un lecteur de microplaques le FLUOstar® Omega, le lecteur utilise un programme spécifique le Klustercaller, et les résultats sont directement affichés (Klustercaller snap) dans un ordinateur le reliant.

3. Résultats et discussion :

La performance moyenne des hybrides F_2 sous différents traitements salins est présentée dans le tableau 22

Tableau 22 : Performance moyenne des hybrides F_2 pour tous les traits étudiés

Traits	JMV (jours)			JMS (jours)			S.F (cm ²)		
	S0	S1	S2	S0	S1	S2	S0	S1	S2
F2_P1xP2	57.67	59.67	54.33	86.33	81.67	80.00	121.95	42.33	5.77
F2_P1xP3	54.67	54.00	54.00	86.33	80.00	81.00	135.45	60.12	5.76
F2_P1xP4	78.00	69.00	69.33	83.33	76.00	77.00	132.27	50.65	69.50
F2_P2xP3	58.33	56.33	56.33	90.00	84.00	84.33	124.29	51.96	58.18
F2_P2xP4	51.67	54.67	54.00	89.67	78.33	77.00	157.73	61.93	34.74
F2_P3xP4	55.00	54.00	54.00	83.00	81.00	79.00	121.92	68.43	15.26
Moyenne	59.22	57.94	57.00	86.44	80.17	79.72	132.27	55.90	31.54
Traits	P.T (g)			P.R (g)			P.G (g)		
	S0	S1	S2	S0	S1	S2	S0	S1	S2
F2_P1xP2	87.93	25.33	10.43	33.40	21.70	9.07	38.50	6.43	1.40
F2_P1xP3	105.60	35.97	6.73	47.33	22.40	9.37	33.00	13.00	0.37
F2_P1xP4	77.30	24.23	18.33	29.03	13.47	18.40	37.27	6.13	2.77
F2_P2xP3	79.10	26.53	6.63	39.40	13.57	5.20	35.77	7.93	0.36
F2_P2xP4	119.50	31.93	11.80	50.33	29.57	15.63	38.60	7.05	5.40
F2_P3xP4	88.27	28.47	13.53	36.17	20.00	12.80	27.93	7.10	2.70
Moyenne	92.95	28.74	11.24	39.28	20.12	11.74	35.18	7.94	2.17
Traits	BT (g)			PPH.T (mg/g)			F.T (mg/g)		
	S0	S1	S2	S0	S1	S2	S0	S1	S2
F2_P1xP2	159.83	53.47	20.90	3.56	3.66	7.44	0.10	0.13	0.25
F2_P1xP3	185.93	71.37	16.47	3.48	2.27	2.28	0.10	0.01	0.04
F2_P1xP4	143.60	43.83	39.50	2.38	3.41	4.60	0.07	0.14	0.17
F2_P2xP3	154.27	48.03	12.20	3.78	1.75	2.69	0.10	0.03	0.00
F2_P2xP4	208.43	68.55	32.83	4.59	4.76	4.24	0.12	0.13	0.09
F2_P3xP4	152.37	55.57	29.03	3.91	3.84	4.55	0.10	0.14	0.13
Moyenne	167.41	56.80	25.16	3.62	3.28	4.30	0.10	0.10	0.11

S0: control; S1: 50 mM NaCl; S2: 100 mM NaCl; Tr. : Traitements salins.

Tous les hybrides F₂ ont été affectés par la salinité, l'hybride F₂_P₁xP₄ a enregistré les meilleurs résultats pour les JMS, P.R, BT et la S.F, tandis que les hybrides F₂_P₃xP₄, F₂_P₂xP₄ et F₂_P₂xP₃ ont montré de bons résultats pour le P.G, JMS et le P.T respectivement ; Le croisement F₂_P₁xP₂ a enregistré les plus hautes valeurs pour la production des polyphénols et des flavonoïdes totaux sous stress salin. Les plus basses valeurs ont été enregistrées par les croisements F₂_P₂xP₄ ; F₂_P₃xP₄ et F₂_P₁xP₃ pour les JMS, la S.F, P.T, BT ; JMS et le P.R respectivement. L'hybride F₂_P₂xP₃ a montré les plus faibles résultats pour la production de polyphénols et des flavonoïdes totaux sous conditions salines.

3.1 L'analyse factorielle des populations :

L'analyse de composante principale a été déjà détaillée pour les parents et la population F₁ dans le chapitre 3. Une nouvelle ACP a été faite en intégrant les données de la population F₂, et en gardant les données des parents et de la F₁, nous nous focaliserons néanmoins sur les hybrides de la population F₂ pour la discussion et l'interprétation.

3.1.1 L'analyse descriptive au niveau de la matrice de corrélation :

Les coefficients de corrélation entre les traits étudiés sont illustrés dans le tableau 23.

Tableau 23 : La matrice de corrélation entre les variables étudiés dans des conditions salines.

Variables	JMV	JMS	S.F	P.T	P.R	P.G	BT	PPH.T	F.T
JMV	1								
JMS	-0.142	1							
S.F	0.424	0.489	1						
P.T	0.177	0.614	0.488	1					
P.R	0.023	0.525	0.226	0.874	1				
P.G	0.111	0.662	0.567	0.908	0.793	1			
BT	0.192	0.688	0.735	0.913	0.768	0.918	1		
PPH.T	0.325	-0.312	0.171	-0.018	-0.082	-0.002	0.068	1	
F.T	0.395	-0.342	0.170	-0.032	-0.078	-0.020	0.056	0.911	1

Les valeurs en gras représentent une forte corrélation entre les traits.

L'introduction de la population F₂ dans l'analyse factorielle a en effet modifié la corrélation entre les variables étudiés par rapport à celle des parents et F₁, ceci s'explique par la complexité des gènes exprimée surtout dans la population F₂, ainsi seuls le P.T, P.R, P.G et BT ont eu une forte corrélation entre eux, alors que pour les traits phytochimiques on note toujours une forte corrélation.

3.1.2 L'analyse descriptive au niveau du cercle de corrélation :

Les principales différences entre les caractères étudiés après l'introduction de la F₂, sont perceptibles chez les traits physiologiques on remarque que la S.F est beaucoup plus

corrélée aux JMV de même pour le P.R, alors que ces dernières sont beaucoup moins corrélées au reste des traits physiologiques, il est toutefois noté que le P.G et le P.T sont hautement corrélés à la première composante qui explique 49.91% de la variance totale. Alors que les traits phytochimiques ont été fortement corrélés à la seconde composante principale qui explique 26.37% de la variance totale.

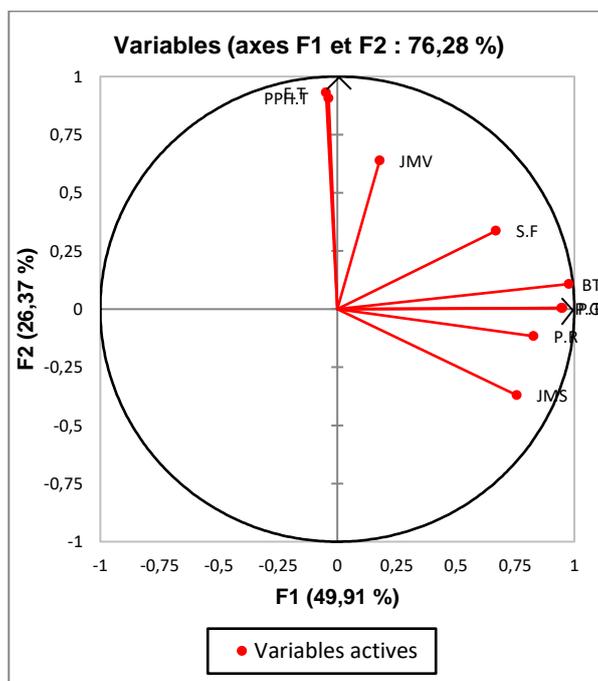


Figure 23 : Cercle de coefficient des corrélations des caractères sous des conditions salines pour toutes les populations.

3.1.3 L'analyse descriptive au niveau des diagrammes de distribution de toutes les populations :

Sous des conditions normales, la matrice des données explique 68.09% de la variance totale, les hybrides $F_2_P_2 \times P_3$ et $F_2_P_1 \times P_2$ ont été hautement corrélés à la 1^{ère} composante principale ($F_1 = 38.76\%$ de la variance totale), alors que l'hybride $F_2_P_1 \times P_3$ a été hautement corrélé à la 2^{ème} composante principale ($F_2 = 29.34\%$ de la variance totale), (figure 24A).

L'effet du traitement salin a induit une réponse différente en comparant avec le traitement non-salin, en effet, sous 50mM NaCl, les hybrides $F_2_P_2 \times P_4$, $F_2_P_1 \times P_4$, $F_2_P_3 \times P_4$ ont été hautement corrélés au 1^{er} axe de la composante principale expliquant 45.79% de la variance totale, alors que l'hybride $F_2_P_1 \times P_3$ a été hautement corrélé au second axe de la composante principale ($F_2 = 21.88\%$ de la variance totale), l'hybride $F_2_P_2 \times P_4$ à toutefois enregistré les meilleurs résultats en conditions salines, notamment la production de PPH.T, (figure 24B)

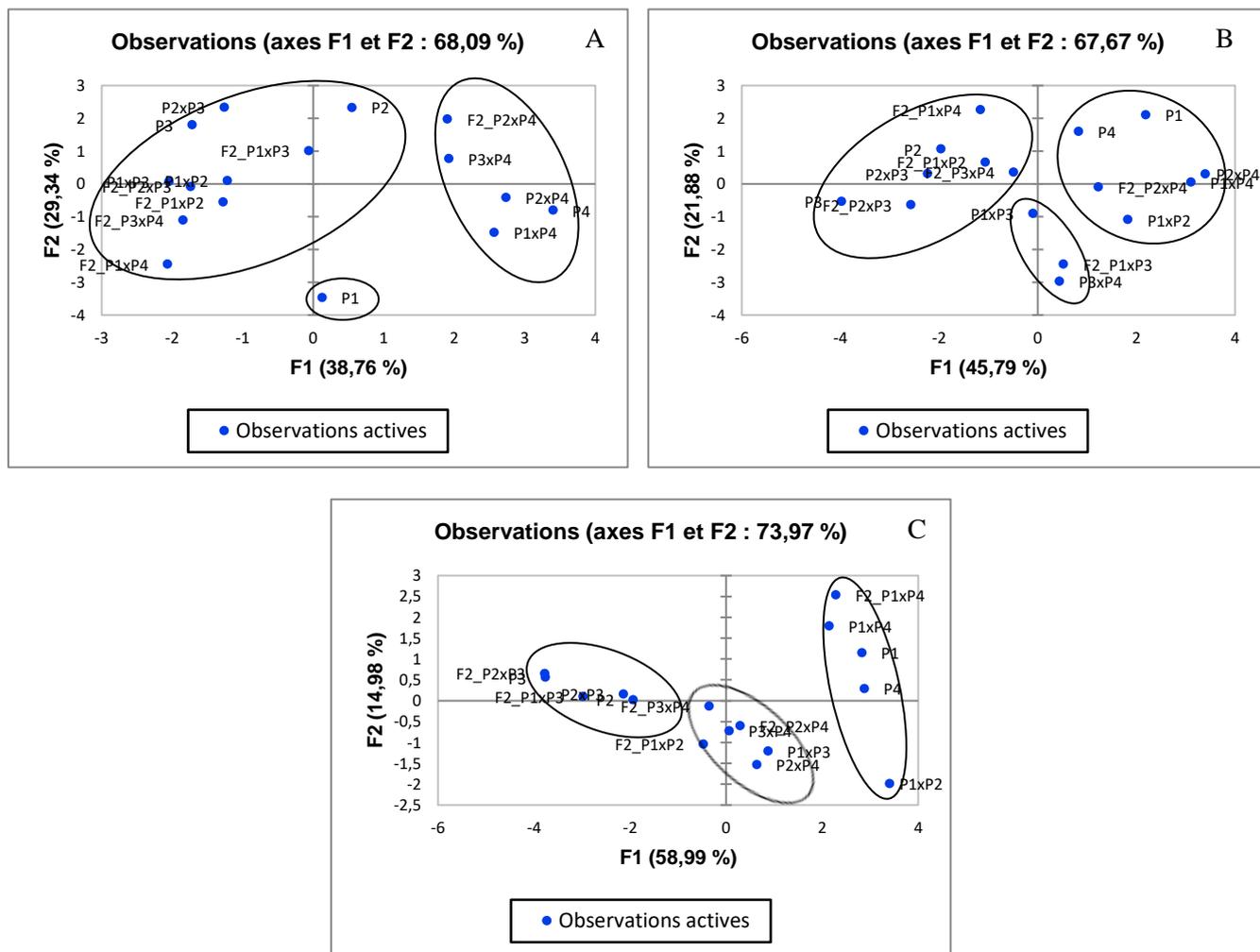


Figure 24 : Digramme de distribution des génotypes de toutes les populations ; A : *Non traité au sel* ; B : *traités avec 50mM NaCl* ; C : *traités avec 100mM NaCl*.

Sous 100mM NaCl, les données de la matrice expliquent 73.97% de la variance totale, les hybrides $F_2_P_1 \times P_3$ et $F_2_P_2 \times P_3$ ont été hautement corrélés à la 1^{ère} composante (F1 = 58.99% de la variance totale), alors que les hybrides $F_2_P_1 \times P_2$, $F_2_P_3 \times P_4$ et $F_2_P_2 \times P_4$ expliquent peu de la variance totale (ils sont très proches du centre d'inertie), d'une manière générale $F_2_P_1 \times P_4$ est relativement tolérant, alors que $F_2_P_1 \times P_3$ et $F_2_P_2 \times P_3$ sont sensibles, les hybrides $F_2_P_1 \times P_2$, $F_2_P_3 \times P_4$ et $F_2_P_2 \times P_4$ ont des réponses intermédiaires au stress salin, (figure 24C).

Il faut noter que la légère différence entre le positionnement des points des parents et des hybrides F_1 est due à l'interaction avec les données de la F_2 .

3.2 L'amplification des microsatellites :

Des 57 microsatellites (SSRs) utilisés initialement ; nous avons gradé que ceux qui avaient des bandes claires et lisibles ; 51 SSRs ont amplifiés : 22 ont été complètement monomorphiques (image 6 ; en haut) et 29 SSRs ont présenté des gels électrophorétiques de très bonne qualité (image 3 ; en bas) ce sont ces SSRs qui ont été retenus pour notre étude ; 4 SSRs ont affiché des amplifications non lisibles et deux SSRs n'ont pas amplifiés.

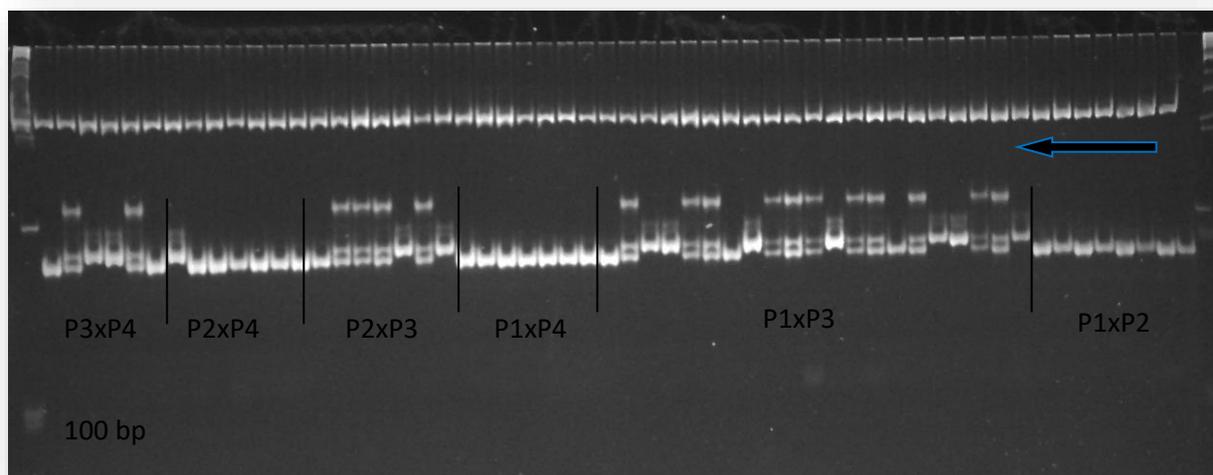


Image 6 : Exemple de profil du marqueur PV-CTT001(en bas, hautement polymorphique) et du marqueur BMd41 (en haut, mono-morphique) sur gel polyacrylamide : La flèche représente la direction de la lecture du gel, en partant de droite à gauche, les génotypes sont mis comme suite : P_1 puis P_2 puis $F_{1_P_1 \times P_2}$ puis 4 génotypes de $F_{2_P_1 \times P_2}$..., le même schéma est répété pour les autres croisements sauf le croisement $P_{1 \times P_3}$ où 18 $F_{2_P_{1 \times P_3}}$ ont été mis sur gel.

3.3 La diversité génétique :

Les allèles générés avec les 29 microsatellites ont été évalués pour étudier la diversité génétique. Le PIC (Polymorphism information content) donne une estimation sur le polymorphisme au sein d'un locus en tenant compte du nombre d'allèles et des fréquences de ces allèles (Smith et al., 1997). La moyenne du PIC se situe à 0.41 ; la valeur la plus élevée a été enregistrée par les marqueurs : BM236 ; BMd20 ; AG1 ; BM175 ; BMd37 et BMd42 (0.50); alors que la valeur la plus basse a été affichée par le marqueur : BM143 (0.28); Par ailleurs la fréquence allélique majeure nous donne de bonne information sur les mutations (ou les variations à moindre mesure) pour la population étudiée avec nos SSRs, La fréquence allélique majeure la plus élevée a été notée par le microsatellite BM143 (0.79), alors que la valeur la plus faible a été enregistrée par ATA234 (0.51). L'index de la diversité génique se

situé entre 0.34 et 0.5 (Tableau 24); alors que les populations P1 ; P2 et P6 présentent le plus de polymorphismes (Tableau 25).

Tableau 24: Résumé des statistiques génétiques des 29 SSRs.

Marquer	Fréquence allélique majeur	No Allèle	Diversité génique	PIC
BM200	0.71	2.00	0.43	0.35
ATA234	0.51	2.00	0.50	0.37
BM143	0.79	2.00	0.34	0.28
BM236	0.56	2.00	0.49	0.50
BM152	0.56	2.00	0.49	0.49
BM140	0.54	2.00	0.50	0.47
GATs91	0.55	2.00	0.49	0.42
ATA76	0.71	2.00	0.42	0.33
BM172	0.66	2.00	0.45	0.35
BM181	0.61	2.00	0.48	0.40
BMd20	0.65	2.00	0.45	0.50
BMd1	0.69	2.00	0.43	0.34
BM212	0.63	2.00	0.47	0.36
BM155	0.52	2.00	0.50	0.37
AG1	0.55	2.00	0.49	0.50
PV-CTT001	0.65	2.00	0.45	0.33
ATA289	0.63	2.00	0.46	0.36
BM175	0.62	2.00	0.47	0.50
BMd37	0.63	2.00	0.46	0.50
ATA6	0.53	2.00	0.50	0.47
BM137	0.66	2.00	0.45	0.35
BM160	0.61	2.00	0.48	0.46
BM211	0.55	2.00	0.49	0.49
BM165	0.66	2.00	0.45	0.35
BM189	0.54	2.00	0.50	0.43
CAC-1	0.64	2.00	0.46	0.35
ATA150	0.72	2.00	0.40	0.32
BMd42	0.65	2.00	0.45	0.50
BM205	0.53	2.00	0.50	0.44
Moyenne	0.62	2.00	0.46	0.41

Hautement informatif (highly informative) : (PIC > 0.50), modérément (moderately informative) : (0.25 < PIC < 0.50) et peu informatif (slightly informative) : (PIC < 0.25), non informatif : (PIC = 0).

Tableau 25 : Pourcentage des loci polymorphes pour chaque population

Population	%P
P1	82.76%
P2	100.00%
P3	51.72%
P4	51.72%
P5	79.31%
P6	93.10%
Moyenne	76.44%
SE	8.37%

3.3.1 La diversité phénotypique chez quelques hybrides F_{2:3} :

La figure 25 démontre l'incroyable diversité phénotypique que recèlent nos populations de haricot.



Figure 25 : Diversité phénotypiques des différents hybrides F_{2:3} : A : *Améliore roza x Amina* ; B : *Coco x Amina* ; C : *Coco x MGT* ; D : *Coco x Améliore roza* ; E : *Améliore roza x Amina* ; F : *MGT x Coco* ; G : *Améliore roza x MGT* ; H : *Améliore roza x Amina* ; I : *Améliore roza x MGT*.

3.4 Les relations génétiques et la structure des populations :

La comparaison sur la base des valeurs de F-Statistics (F_{st}) pourrait être interprétée comme une distance de population standardisée entre deux populations ; dans notre étude nous avons 6 populations issues du croisement diallèle. Selon le tableau 26, le nombre effectif d'allèles (NEa) se situe entre 1.87 et 1.36 pour les populations P2 et P4 respectivement.

L'indice de diversité de Shannon (I) est présenté dans le tableau 26; fondamentalement, les populations P2, P6 et à moindre mesure P1 montre une grande diversité par rapport aux autres populations, enregistrant les plus hautes valeurs à 0.662, 0.608

et 0.531 respectivement ; les populations P4 et P3 affichent quant à eux les plus faibles valeurs avec 0.302 et 0.311 respectivement.

Tableau 26 : Hétérozygotie, caractéristiques et polymorphisme par population pour les données codominantes

Pop		NEa	I	Ho	Ha
P1	Moyenne	1.707	0.531	0.428	0.374
	SE	0.071	0.048	0.063	0.035
P2	Moyenne	1.875	0.662	0.539	0.461
	SE	0.035	0.014	0.045	0.011
P3	Moyenne	1.405	0.311	0.331	0.217
	SE	0.085	0.060	0.076	0.043
P4	Moyenne	1.363	0.302	0.283	0.206
	SE	0.074	0.057	0.065	0.040
P5	Moyenne	1.620	0.492	0.386	0.342
	SE	0.068	0.049	0.063	0.035
P6	Moyenne	1.813	0.608	0.531	0.430
	SE	0.051	0.033	0.064	0.024

Plusieurs mesures d'hétérozygotie (Ho : hétérozygotie observée ; Ha : hétérozygotie attendue) existent. La valeur de ces mesures ira de zéro (pas d'hétérozygotie) à près de 1 (pour un système avec un grand nombre d'allèles également fréquents), ainsi les populations présentant une grande diversité en relation à leur indice d'hétérozygotie sont les populations P2 et P6 ; et à moindre mesure la population P1.

La distance génétique entre les populations est présentée dans le tableau 27 ; La plus haute distance génétique a été notée entre la population P3 et P4 (0.627), alors que la plus faible distance génétique a été enregistrée entre les populations P1 et P2 (0.089) ; et P2 et P6 (0.098).

Tableau 27 : Matrice de population par paires de distance génétique selon Nei.

P1	P2	P3	P4	P5	P6	
0.000						P1
0.089	0.000					P2
0.189	0.187	0.000				P3
0.218	0.253	0.627	0.000			P4
0.113	0.147	0.265	0.215	0.000		P5
0.189	0.098	0.262	0.256	0.148	0.000	P6

3.4.1 L'arbre phylogénétique :

Une analyse en grappes (Clusters analysis) a été effectuée en utilisant la méthode Neighbor-joining (NJ) pour toutes les populations et un arbre phylogénétique a été construit (Figure 26). Les 6 populations ont été groupées dans trois grappes majeures ; en concordance avec la distance génétique, les grappes des populations P1 (en vert) et P2 (en bleu) sont très proches, d'une manière générale les populations sensibles (en orange) et tolérantes (en vert) sont assez distantes avec une distance génétique de 0.218 (Tableau 27).

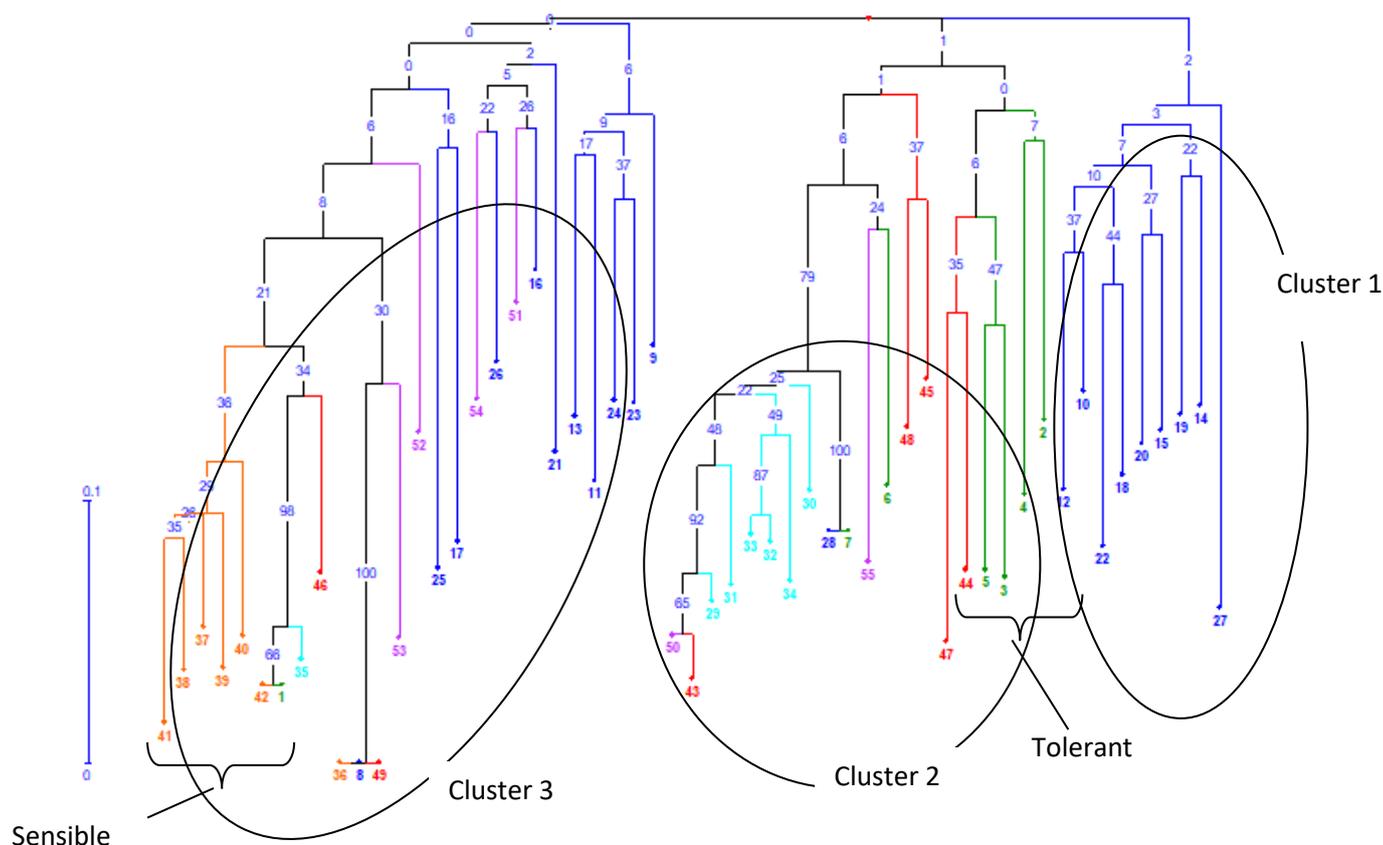


Figure 26 : Arbre phylogénétique des populations de haricot étudiées construite sur la base des données microsatellites. P1 : Vert ; P2 : Bleu ; P3 : Turquoise ; P4 : Orange ; P5 : Rouge ; P6 : Violet.

3.4.2 L'analyse des coordonnées principales (PCoA) :

L'analyse des coordonnées principales est en effet très prometteuse (figure 27) ; on peut distinguer clairement deux populations diagonalement opposées à savoir la population P3 et P4, indiquant de très grandes dissimilarités génétiques, entre elles et entre le reste des populations ; les populations P2, P1 et P5 se déploient sur le même axe, alors que la population P6 se déploie sur l'axe opposé ; la population P2 est distincte des autres populations à moindre mesure ; toutefois la dissimilarité génétique reste relative.

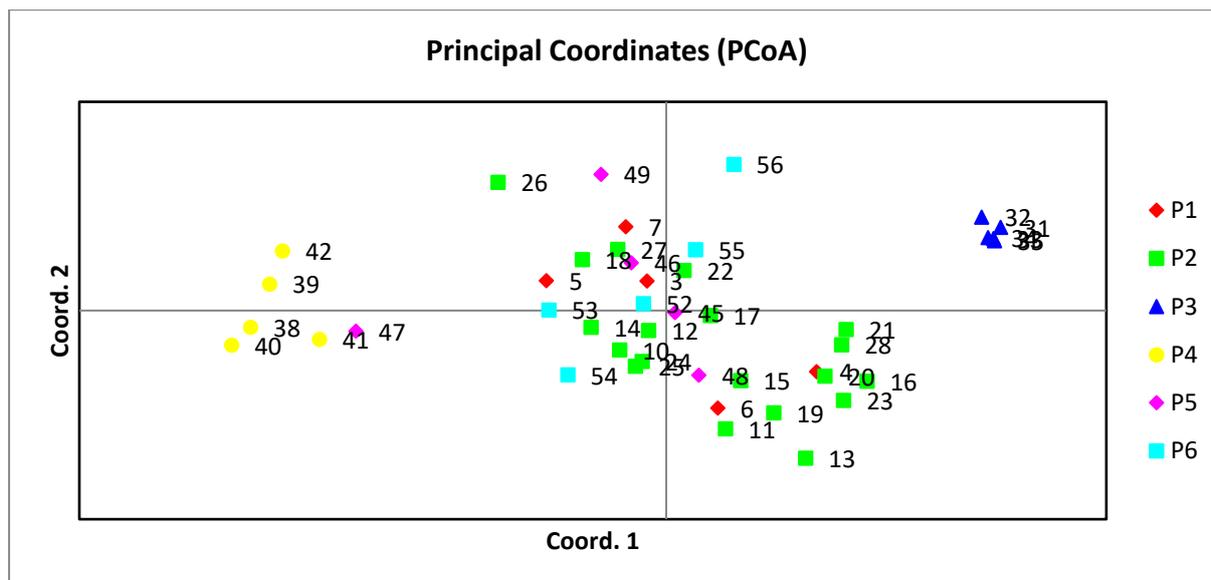


Figure 27 : Analyse des coordonnées principales des populations de haricot sur la base de données des microsattellites.

3.5 L'analyse à un seul marqueur « Single marker analysis (SMA) » :

Un seul marqueur était associé à de nombreux traits et à un seul trait associé à de nombreux marqueurs, dans le tableau 19 (page 94), l'analyse à un seul marqueur pour les effets de l'GCA des parents a été calculée pour chaque trait étudié, alors que l'analyse a été faite pour la tolérance et la susceptibilité à la salinité de manière générale pour la génération F₂ (Tableau 28).

15 microsattellites ont montré une grande relation avec le trait JMV expliquant pour la majorité jusqu'à 99% (R²%) de la variabilité phénotypique du trait, qualitativement parlant c'est le meilleur résultat obtenu. Pour le trait JMS 21 marqueurs enregistrent une relation avec le trait expliquant entre 99% et 43% de la variabilité phénotypique.

Alors que pour la S.F, 17 microsattellites ont été associés à ce trait expliquant entre 13% et 92% de la variation phénotypique. Pour le reste des traits physiologiques 23 ; 23 ; 22 et 23 marqueurs ont été associés aux traits, P.T, P.R, P.G et BT respectivement, la variabilité phénotypique expliquée varie entre 23% et 88%.

Les traits phytochimiques sont les traits qui ont enregistré les plus faibles valeurs ; en effet seuls 5 SSRs ont été liés à la teneur des polyphénols totaux, expliquant de 2% à 100% de la variabilité phénotypique, les marqueurs BMd37 ; BM200 et ATA243 sont très prometteurs pour des études ultérieures. Alors que pour les flavonoïdes totaux 9 SSRs ont été associés à ce trait expliquant entre 90 et 98% de la variabilité phénotypique, sauf pour le marqueur BM143 (35%).

D'une manière générale, les marqueurs BMd1 et BM155 n'ont montré aucune association pour aucun trait étudié, par contre le marqueur BM143 a présenté une association seulement pour les traits phytochimiques ; alors que le marqueur BMd37 a démontré une forte association pour tous les traits étudiés (Tableau 28).

Tableau 28 : Analyse à un seul marqueur pour les effets de l'AGC pour tous les traits.

Markers	JMV	JMS	S.F	P.T	P.R	P.G	TB	PPH.T	F.T
Valeurs R ² ajustées									
BM200-330	0.04	ns	0.14	ns	ns	ns	ns	0.99	ns
ATA-243	ns	ns	0.13	ns	ns	0.52	ns	0.99	ns
BM143	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0.02	0.35
BM236-150	0.99	0.55	0.92	0.8	0.54	0.46	0.8	ns	ns
BM152-143	0.99	0.55	0.92	0.8	0.54	0.46	0.8	ns	ns
BM140	ns	0.43	ns	0.34	0.4	0.08	0.42	ns	0.9
GATs91-400	0.99	0.55	0.92	0.8	0.54	0.46	0.8	ns	ns
ATA76	0.99	0.55	0.92	0.8	0.54	0.46	0.8	ns	ns
BM172	ns	ns	ns	0.33	0.51	ns	0.23	ns	ns
BM181	0.99	0.55	0.92	0.8	0.54	0.46	0.8	ns	ns
BMd20	ns	0.43	ns	0.34	0.4	0.08	0.42	ns	0.9
BMd1	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
BM212	ns	0.43	ns	0.34	0.4	0.08	0.42	ns	0.9
BM155	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
AG1	0.99	0.55	0.92	0.8	0.54	0.46	0.8	ns	ns
PV-CTT001	ns	0.43	ns	0.34	0.4	0.08	0.42	ns	0.9
ATA289	ns	ns	ns	0.51	0.88	ns	0.49	ns	0.98
BM175	0.05	0.48	0.27	ns	ns	0.78	ns	ns	ns
BMd37-127	0.99	0.52	0.89	0.81	0.47	0.04	0.88	1	0.92
ATA6	0.99	0.55	0.92	0.8	0.54	0.46	0.8	ns	ns
BM137-180	0.99	0.55	0.92	0.8	0.54	0.46	0.8	ns	ns
BM160	0.99	0.58	0.96	0.79	0.6	0.88	0.72	ns	ns
BM211	0.99	0.55	0.92	0.8	0.54	0.46	0.8	ns	ns
BM165	ns	0.43	ns	0.34	0.4	0.08	0.42	ns	0.9
BM189	0.99	0.55	0.92	0.8	0.54	0.46	0.8	ns	ns
CAC1-90	0.99	0.55	0.92	0.8	0.54	0.46	0.8	ns	ns
ATA150	ns	0.43	ns	0.34	0.4	0.08	0.42	ns	0.9
BMd42-165	ns	ns	ns	0.51	0.88	ns	0.49	0.35	0.98
BM205-165	0.99	0.99	0.92	0.8	0.54	0.46	0.8	ns	ns

ns : non significatif.

Pour la population F₂ plusieurs marqueurs ont été associés à la salinité, au total 17 SSRs ont montré des valeurs significatives expliquant entre 0.7 et 22% du total de la variation phénotypique ; le marqueur CAC1-90 a enregistré la plus haute valeur avec 22%, alors que les marqueurs ATA6 ; BM172 ; BM189 et BM165 expliquent 19 ; 18 ; 16 et 12% de la variabilité

phénotypique (Tableau 29) ; Cela indique que ces marqueurs sont associés à la tolérance et sont considérés comme indicateurs de gènes de résistance.

Tableau 29 : Analyse à un seul marqueur pour de la population F₂ pour la tolérance à la salinité.

Marqueurs	R ² ajustées	Marqueurs	R ² ajustées
BM200-330	0.04	PV-CTT001	ns
ATA-243	ns	ATA289	ns
BM143	ns	BM175	0.09
BM236-150	0.07	BMd37-127	0.02
BM152-143	0.04	ATA6	0.19
BM140	ns	BM137-180	0.08
GATs91	ns	BM160	ns
ATA76	0.007	BM211	0.08
BM172	0.18	BM165	0.12
BM181	ns	BM189	0.16
BMd20	0.05	CAC1-90	0.22
BMd1	ns	ATA150	ns
BM212	ns	BMd42-165	0.03
BM155	ns	BM205-165	0.03
AG1	0.08		

3.6 L'analyse des SNPs :

Tous les marqueurs SNPs ont été monomorphiques, le SNP 12 et le SNP 3 (Tableau 21) (page 105) ont toutefois enregistré un certain polymorphisme, ne pouvant être expliqué que biologiquement parlant, les points bleus représentent les allèles récessifs (complètement homozygotes pour les marqueurs) ; les points rouges représentent les allèles dominants (homozygotes) et les points verts sont tous hétérozygotes (image 7).

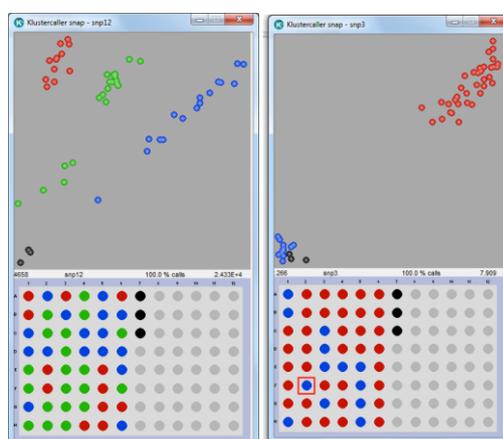


Image 7 : Klustercaller snap des SNPs 12 (à gauche) et 3 (à droite).

4. Interprétation :

Cette étude montre que des microsatellites hautement efficaces et sélectifs peuvent être utilisés pour améliorer l'analyse basée sur le génome, à l'image de l'analyse à un seul marqueur à l'échelle du génome.

4.1 La diversité génétique :

D'après les résultats obtenus sur le polymorphisme de chaque marqueur SSR utilisé sur les différentes populations issues du croisement diallèle de *P. vulgaris* et à la lecture du tableau 25 (page 112), on remarque que les populations P1 ; P2 et P6 présentent toujours le plus de polymorphisme (bandes polymorphes). Le taux moyen du PIC se situe à 0.41 et donc les marqueurs utilisés dans notre étude sont modérément informatifs.

Le nombre effectif d'allèles (NEa) est le nombre d'allèles avec des fréquences égales qui seraient nécessaires pour nous donner la même hétérozygotie que dans notre population d'étude (dans laquelle les fréquences d'allèles ne sont pas égales). Dans ce cas, les allèles à basse fréquence contribuent peu au nombre effectif d'allèles comme c'est le cas pour les populations P4 et P3, alors que les populations P1 ; P2 et P6 enregistrent toujours les plus hautes valeurs pour la fréquence allélique majeure.

L'indice de diversité de Shannon (I) est un indice couramment utilisé pour caractériser la diversité des espèces dans un écosystème donné, l'indice de Shannon prend en compte à la fois de l'abondance et de la régularité de l'espèce présente ; si l'indice de Shannon évalue les populations de l'extérieur, l'hétérozygotie l'évalue de l'intérieur, une hétérozygotie élevée signifie une grande variabilité génétique. Une faible hétérozygotie signifie une faible variabilité génétique. Souvent, nous comparons le niveau d'hétérozygotie observé à ce que nous attendons sous l'équilibre de Hardy-Weinberg (HWE), (Chen, 2010), (Tableau 26). Si l'hétérozygotie observée est inférieure à celle attendue, nous cherchons à attribuer cet écart à des forces telles que la consanguinité. Si l'hétérozygotie est plus élevée que prévue, nous pourrions suspecter un effet de rupture d'isolat (le mélange de deux populations précédemment isolées) (Shannon and Weaver, 1963) ; cette dernière réflexion est en effet l'essence même de notre étude, et donc il est très clair que les populations P2 ; P6 et P1 représentent les populations les plus diversifiées.

4.2 La structure des populations :

Concernant la distance génétique, les populations P1 ; P2 et P6 ont été relativement proches alors que les populations P3 et P4 sont les plus distantes génétiquement parlant, ces

résultats s'accordent bien, notamment avec les phénotypes parentaux de ces populations, en effet les parents P₁ et P₄ sont proches phénotypiquement et beaucoup plus distants en comparaison avec les parents P₂ et P₃.

L'arbre phylogénétique ainsi que l'analyse des coordonnées principales confirment les résultats obtenus ultérieurement et les dissimilarités entre les différentes populations sous étude ; la différence entre les populations P3 et P4 est clairement établie, tandis-que les autres populations partagent plus ou moins de similarité génétique.

Plusieurs recherches ont investigué la diversité génétique et la structure de population de haricot (Blair et al., 2010 ; Santalla et al., 2010 ; Persegui et al., 2011) et d'autres cultures (Štajner et al., 2014; Choudhury et al., 2014).

4.3 L'analyse à un seul marqueur :

La régression linéaire simple a été calculée en utilisant les caractères phénotypiques et le génotype de chaque marqueur. La relation potentielle entre le marqueur et le trait a été établie en tenant compte de la signification du coefficient de régression pour l'analyse à un seul marqueur (David et al., 2011). Les marqueurs représentant plus de 10% de la variation phénotypique sont considérés comme des marqueurs majeurs (Collard et al., 2005) ; de ce fait chez les génotypes parentaux, plusieurs microsatellites ont été associés à différents traits sous stress salin, en effet le marqueur BMd37 (LG6) semble être très prometteur en plus des marqueurs BM200 et ATA243 (LG1) qui ont montré une forte association à la production des polyphénols et des flavonoïdes totaux. Chez les hybrides F₂ plusieurs microsatellites : CAC1-90 (LG9) ; ATA6 (LG11) ; BM172 (LG3) ; BM189 et BM165 (LG8) ont montré une assez bonne association pour la tolérance à la salinité expliquant jusqu'à 22% de la variabilité phénotypique et donc *de facto* de la tolérance. Nous n'avons pas pu trouver dans la littérature des recherches associant l'analyse à un seul marqueur et la tolérance à la salinité pour le haricot, d'où la nouveauté de notre recherche, néanmoins quelques recherches ont été faites dans d'autres cultures (Anandhan et al., 2010 ; Zongo et al., 2017).

4.4 Les SNPs :

Les résultats des marqueurs SNPs s'expliquent essentiellement par le nombre insuffisant des génotypes formant la population ; dans de telles conditions il faut utiliser un très grand nombre de marqueurs pour avoir des résultats satisfaisants ou le développement d'une très grande population de RILs, or le coût des SNPs est extrêmement cher ; et le

développement de population plus large prend beaucoup de temps (il faut compter de 7 à 10 ans pour avoir des RILs de haricot commun); néanmoins le SNP 12 montre un certain polymorphisme qui ne peut être expliqué que biologiquement parlant, affichant la dominance de chaque génotype étudié ; en plus du SNP 3, ces SNPs montrent que nos génotypes sont très prometteurs pour des études ultérieures après avoir au préalable développé une plus grande population.

5. Conclusion :

L'étude de la diversité génétique a démontré que nos génotypes de haricot commun communément cultivés en Algérie sont en effet d'une grande diversité génétique, cette diversité est essentielle pour l'amélioration et la production de variétés tolérantes à la salinité.

Les marqueurs moléculaires liés aux QTLs / gènes majeurs pour les caractères d'intérêt sont régulièrement développés dans plusieurs cultures en utilisant des matériaux dérivés de croisements planifiés tels que F₂, RIL, backcross et les populations doubles haploïdes. Cependant, la non-disponibilité des populations cartographiques et le temps considérable nécessaire pour développer ces populations constituent parfois des limites majeures dans l'identification des marqueurs moléculaires pour des caractères spécifiques. Une autre limitation est l'absence de lien étroit entre le marqueur et les caractères observés dans ces études. En plus, il est difficile d'éliminer les faux positifs avec les méthodes disponibles.

Les marqueurs identifiés au cours de notre étude ont été associés à plusieurs traits suggérant un grand nombre de QTLs associés à ces traits et ils sont donc très prometteurs pour d'autres études ultérieures pouvant s'appliquer à un grand nombre de programmes de sélection de haricot, notamment la sélection assistée par marqueurs (MAS).

Conclusion générale et perspectives

L'étude de la salinité pour les géotypes de haricot commun cultivés en Algérie a permis d'identifier les géotypes tolérants et sensibles, basée sur plusieurs traits phénologiques, physiologiques et phytochimiques. Les géotypes parentaux Coco nain et Améliore roza sont les géotypes les plus tolérants en milieu salin, en effet une forte activité du métabolisme secondaire a été enregistrée chez ces deux géotypes se traduisant par une importante production de métabolites secondaires notamment les polyphénols et les flavonoïdes en conditions de stress salin. Cette augmentation de la production de métabolites secondaires a permis de contrer les dommages oxydatifs, conférant à ces géotypes leur tolérance à la salinité.

De plus les hybrides résultant des croisements là où l'un des deux parents Coco nain et Améliore roza était impliqué ont montré des résultats aussi bons que ceux de leurs parents, et parfois même meilleurs que ces derniers indiquant un fort effet d'hétérosis très recherché dans la production agricole. Avec des pratiques de gestion appropriées, il est probable que les pertes économiques associées aux réductions de rendement dues à la salinité peuvent être compensées par la production de cultures vivrières de qualité pouvant être commercialisées pour répondre aux demandes changeantes du marché et de la santé des consommateurs.

Les résultats de l'analyse diallèle ont démontré que les géotypes parentaux Coco nain et Améliore roza sont de bons combineurs généraux, et même si le géotype parental MGT a enregistré de meilleurs résultats pour quelques traits, néanmoins il reste sensible à la salinité. Les croisements Amina x Améliore roza, MGT x Améliore roza et Coco nain x Amina ont enregistré les meilleurs résultats quant à l'aptitude spécifique à la combinaison et l'hétérosis pour les traits étudiés sous stress salin. Cette tolérance s'est génétiquement exprimée par une action génique à la fois additive et non additive contrôlant différents traits phytochimiques, physiologiques et phénologiques.

Les résultats de l'héritabilité des traits sont très prometteurs, en effet nous avons enregistré une forte héritabilité pour les traits phytochimiques, ce qui indique un maintien de la forte production des métabolites secondaires chez les générations suivantes essentielles à la tolérance en milieu salin.

Les résultats de l'analyse moléculaire ont permis de démontrer l'importante diversité génétique des populations issues des croisements diallèles, cette diversité est essentielle pour l'émergence de gènes résistants pas que pour la salinité mais pour toute autre forme de stress.

Plusieurs marqueurs SSRs ont été hautement associés aux différents traits de notre étude, ceci indique qu'un ou plusieurs QTLs sont localisés sur la partie où se trouve le SSR en question, pour les traits phytochimiques ce sont les LG 1 et 6 qui regroupent les marqueurs associés à ce trait.

Les présents résultats ont révélé que plusieurs des hybrides et populations obtenus sont très prometteurs pour être utilisés dans des programmes de sélection de cultivars du haricot commun, et qui possèdent de forts potentiels génétiques pour la tolérance à la salinité et l'amélioration de la qualité nutritionnelle du haricot. De plus les marqueurs SSRs identifiés sont très prometteurs pour d'autres études ultérieures investiguant de manière plus approfondies l'emplacement et l'ampleur des QTLs associés à ces traits.

Références bibliographiques

A

- Abdul-Muneer P.M., 2014. Application of microsatellite markers in conservation genetics and fisheries management: recent advances in population structure analysis and conservation strategies. *Genetics Research International*, 69: 17-59. DOI: 10.1155/2014/691759
- Acosta-Gallegos JA, Kelly JD, Gepts P., 2007. Prebreeding in common bean and use of genetic diversity from wild germplasm. *Crop Sci* 47:44–59
- Adam-Blondon A, Seignac M, Dron M., 1994. A genetic map of common bean to localize specific resistance genes against anthracnose. *Genome* 37:915–924
- Agati G, Azzarello E, Pollastri S, Tattini M., 2012. Flavonoids as antioxidants in plants: location and functional significance. *Plant Sci* 196:67—76
- Agbahoungba S., Karungi J., Badji, A., Sadik K., Gibson, P., Edema, R., Assogbadjo, A.E., Rubaihayo, P.R., 2018. Inheritance of cowpea resistance to flower thrips in Uganda germplasm. . J. Plant Breed. *Crop Sci* 10: 21–32. <https://doi.org/10.5897/JPBCS2017.0698>
- Ahuja, M.,R, and Jain S.M., 2015. Genetic diversity and erosion in plants-indicators and prevention, Volume 1. Springer.
- Akond G.M. , Khandaker L. , Berthold J. , Gates L. , Peters K. , Delong H., Hossain K., 2011. Anthocyanin, total polyphenols and antioxidant activity of common bean . *American Journal of Food Technology* 6 : 385 – 394 .
- Allard R.W., 1960. Principles of Plant Breeding, John Wiley and Sons Inc, New York,USA.
- Anandhan T., Manivannan N., Vindhiyavarman P., Jeyakumar P., 2010. Single marker analysis in sunflower (*Helianthus rannuus* L.). *Electron. J. Plant Breeding* 1: 1227–1234.
- Antipolis S., 2003. Les menaces sur les sols dans les pays Méditerranéens. *Les cahiers du plan bleu*, Vol.2 :44-49.
- Arunga E.E., Rheenen H.A. Van Owuoche J.O., 2010. Diallel analysis of Snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties for important traits. *African J. Agric. Res.* 5: 1951–1957. <https://doi.org/10.5897/AJAR09.082>
- Asfaw A, Blair MW, Almekinders C., 2009. Genetic diversity and population structure of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces from the East African highlands. *Theor Appl Gen* 120: 1–12
- Ashraf M, Shahbaz M., 2003. Assessment of genotypic variation in salt tolerance of early CIMMYT hexaploid wheat germplasm using photosynthetic capacity and water relations as selection criteria. *Photosynthetica* 41:273–280.
- Ashraf M., 2004. Some important physiological selection criteria for salt tolerance in plants. *Flora* 199:361–376.

Ashraf M., Harris P. J. C., 2004. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant Sci* 166: 3–16.

Atnaf M., 2013. Inheritance of primary yield component traits of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.): Number of seeds per pod and 1000 seed weight in an 8 x 8 diallel cross population. *Int. J. Genet. Mol. Biol.* 5: 42–53. <https://doi.org/10.5897/IJGMB2013.0076>

Austin DF, Lee M, Veldboom LR, Hallauer AR., 2000. Genetic mapping in maize with hybrid progeny across testers and generations: grain yield and grain moisture. *Crop Science* 40(1): 30-39.

Austin DF, Lee M, Veldboom LR., 2001. Genetic mapping in maize with hybrid progeny across testers and generations: plant height and flowering. *Theoretical and Applied Genetics* 102(1): 163-176.

Azad MAK, Shah-E-Alam M, Hamid MA, Rafii MY, Malek MA., 2014. Combining ability of pod yield and related traits of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) under salinity stress. *The Scientific World Journal* 589586: 1-7.

B

Bahari M, Rafii MY, Saleh GB, Latif MA., 2012. Combining ability analysis in complete diallel cross of watermelon (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai). *Scientific World Journal* 543158.

Baker R.J., 1978. Issues in diallel analysis. *Crop Science* 18(4): 533-536.

Ballhorn DJ, Kautz S, Jensen M, Schmitt S, Heil M, Hegeman AD., 2011. Genetic and environmental interactions determine plant defences against herbivores. *J Ecol* 99:313—326

Bao Y, Wang S, Wang X, Wang Y, LI X, et al., 2009. Heterosis and combining ability for major yield traits of a new wheat germplasm Shannong 0095 derived from *Thinopyrum intermedium*. *Agricultural Sciences in China* 8(6): 753-760.

Bargaz A., Nassar R.M.A., Rady M.M., Gaballah M.S., Thompson S.M., Brestic M., Schmidhalter U., Abdelhamid M.T., 2016. Improved Salinity Tolerance by Phosphorus Fertilizer in Two *Phaseolus vulgaris* L. Recombinant Inbred Lines Contrasting in Their P-Efficiency. *J. Agron. Crop Sci.* 202, 497–507. <https://doi.org/10.1111/jac.12181>

Bartels D.; Sunkar R., 2005. Drought and salt tolerance in plants. *Crit. Rev. Plant Sci.* 24: 23–58.

Bayuelo-Jiménez J. S., D. G. Debouck., J. P. Lynch., 2003. Growth, gas exchange, water relations, and ion composition of *Phaseolus* species grown under saline conditions. *Field Crops Research* vol. 80, no. 3 : 207–222.

Beebe S, Skroch PW, Tohme J, DuqueMC, Pedraza F and Nienhuis J., 2000. Structure of genetic diversity among common bean landraces of Middle American origin based on correspondence analysis of RAPD. *Crop. Sci.* 40: 264–273.

Beebe SE, Rojas-Pierce M, Yan X, Blair MW, Pedraza F, Munos F, Tohme J, Lynch JP., 2006. Quantitative trait loci for root architecture traits correlated with phosphorus acquisition in common bean. *Crop Sci* 46:413–423

- Belaid J., 2018. Un dossier sur les récentes orientations en matière du programme national de développement des légumes secs. *Collection Brochures Agronomiques*.
- Benitez L.C., da Silva Rodrigues I.C., Arge L.W.P., Ribeiro M.V., Braga E.J.B., 2011. Multivariate analysis of genetic divergence of genotypes of rice under salt stress during the vegetative phase. *Rev. Cienc. Agron.* 42: 409–416. <https://doi.org/10.1590/S1806-66902011000200021>
- Benson G., 1999. Tandem repeats finder: a program to analyze DNA sequences. *Nucleic Acids Res.* 27:573–580.
- Bi Y., Li W., Xiao J., Lin H., Liu M., Liu M., Luan X., Zhang B., Xie X., Guo D., Lai Y., 2015. Heterosis and combining ability estimates in isoflavone content using different parental soybean accessions: Wild soybean, a valuable germplasm for soybean breeding. *PLoS One* 10: 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0114827>
- Biala K., Peeters A., Muys B., Hermy M., Brouckaert V., García V., Van der Veken B., Valckx J., 2005. Biodiversity indicators as a tool to assess sustainability levels of agroecosystems, with a special consideration of grassland areas. *Options Méditerranéennes, Series A, No. 67*: 439-443.
- Bicer BT, Sakar D., 2008. Heritability and gene effects for yield and yield components in chickpea. *Hereditas* 145(5): 220-224.
- Birchler, J.A., Veitia, R.A., 2010. The gene balance hypothesis: Implications for gene regulation, quantitative traits and evolution, *New Phytol.*, vol. 186, no. 1: 54–62. Doi 10.1111/j.1469-8137.2009.03087.
- Birchler J.A., Johnson A.F., Veitia R.A., 2016. Kinetics genetics: Incorporating the concept of genomic balance into an understanding of quantitative traits, *Plant Sci.*, 2016, vol. 245: 128–134. doi 10.1016/j.plantsci.02.002
- Bláha L, Pazderů K., 2013. Influence of the Root and Seed Traits on Tolerance to Abiotic Stress. *Agricultural Chemistry*. Edited by Margarita Stoytcheva and Roumen Zlatev. *InTech*. 5: 1-89.
- Blair MW, Giraldo MC, Buendia HF, Tovar E, Duque MC, Beebe SE., 2006. Microsatellite marker diversity in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Theor Appl Genet* 113:100–109
- Blair MW, Muñoz-Torres M, Giraldo MC, Pedraza F., 2009b. Development and diversity assessment of Andean-derived, gene-based microsatellites for common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *BMC Plant Biol* 9:100
- Blair M.W., Hurtado N., 2013. EST-SSR markers from five sequenced cDNA libraries of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) comparing three bioinformatic algorithms. *Mol Ecol Resour.* 13(4):688-95. doi: 10.1111/1755-0998.12099.
- Blair M. W., Buendia H. F., Giraldo M. C., Métails I., Peltier, D., 2008. Characterization of AT-rich microsatellites in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Theor. Appl. Genet.* 118, 91–103. doi: 10.1007/s00122-008-0879-z
- Blair M. W., Hurtado N., Chavarro C. M., Muñoz-Torres M., Giraldo M. C., Pedraza, F., et al., 2011. Gene-based SSR markers for common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) derived from root and leaf tissue ESTs: an integration of the BMC series. *BMC Plant Biol.* 11:50. doi: 10.1186/1471-2229-11-50

- Blair, M. W., Iriarte, G., and Beebe, S., 2006a. QTL analysis of yield traits in an advanced backcross population derived from a cultivated Andean × wild common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cross. *Theor. Appl. Genet.* 112: 1149–1163. doi: 10.1007/s00122-006-0217-2
- Blair, M. W., Medina, J., Astudillo, C., Rengifo, J., Beebe, S., Machado, G., et al., 2010. QTL for seed iron and zinc concentrations in a recombinant inbred line population of Mesoamerican common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Theor. Appl. Genet.* 121: 1059–1071. doi: 10.1007/s00122-010-1371-0
- Blair, M. W., Pedraza, F., Buendía, H. F., Gaitán-Solís, E., Beebe, S. E., Gepts, P., et al., 2003. Development of a genome-wide anchored microsatellite map for common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Theor. Appl. Genet.* 107: 1362–1374. doi: 10.1007/s00122-003-1398-6
- Blair, M. W., Pedraza, F., Giraldo, M. C., Buendía, H. F., and Hurtado, N., 2009. Development of microsatellite markers for common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) based on screening of non-enriched small insert genomic libraries. *Genome* 52: 772–787. doi: 10.1139/G09-053
- Blair, M.W., González, L.F., Kimani, P.M., Butare, L., 2010. Genetic diversity, inter-gene pool introgression and nutritional quality of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) from Central Africa. *Theor. Appl. Genet.* 121: 237–248. <https://doi.org/10.1007/s00122-010-1305-x>
- Boopathi, N.M., 2013. Genetic Mapping and Marker Assisted Selection: Basics, Practice and Benefits, Genetic Mapping and Marker Assisted Selection: Basics, Practice and Benefits. *Springer* 3: 39-80. <https://doi.org/10.1007/978-81-322-0958-4>
- Bos, I., and P.D.S. Caligari., 2008. Selection methods in plant breeding. 2nd ed. *Springer*, Dordrecht.
- Boutraa, T., Sanders, F.E., 2001. Influence of Water Stress on Grain Yield and Vegetative Growth of Two Cultivars of Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Agron. Crop Sci.* 187:251–257. <https://doi.org/10.1046/j.1439-037X.2001.00525.>
- Bowyer, C.; Withana, S.; Fenn, I.; Bassi, S.; Lewis, M.; Cooper, T.; Benito, P.; Mudgal, S., 2009, Land Degradation and Desertification Policy Department Economic and Scientific Policy IP/A/ENVI/ST/2008-23; European Parliament: Brussels, Belgium, 2009.
- Brady, N.C., 2002. The Nature and Properties of Soils, New Jersey, USA, Prentice Hall.
- Breese, E.L., 1972. Biometrical Genetics and Its Application. *Eucarpia Congress*, Cambridge, pp. 135–146.
- Breure C.J., Verdooren L.R., 1995. Guidelines for testing and selecting parent palms in oil palm. Practical aspects and statistical methods. *ASD Oil Palm Papers*, 9: 1-68.
- Broughton W J., 2003. Roses by Other Names: Taxonomy of the *Rhizobiaceae*. *J Bacteriol.* 185:2975-79.
- Brumfield, RT; Beerli, P; Nickerson, DA; Edwards, SV., 2003. The utility of single nucleotide polymorphisms in inferences of population history. *Trends Ecol. Evol. (Amst.)*. 18: 249–256.

C

- Cabot, C., Sibole, J. V., Barceló, J., Poschenrieder, C., 2009. Abscisic acid decreases leaf Na⁺ exclusion in salt-treated *Phaseolus vulgaris* L. *J. Plant Growth Regul.* 28:187–192. <https://doi.org/10.1007/s00344-009-9088-5>
- Cardador-Martinez, A., Loarca-Pina, G., and Oomah, B.D., 2002. Antioxidant activity in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 6975 – 6980.
- Carden DE, Walker DJ, Flowers TJ, Miller AJ., 2003. Single-cell measurements of the contributions of cytosolic Na⁽⁺⁾ and K⁽⁺⁾ to salt tolerance. *Plant Physiol* 131:676–683
- Castelo AT, Martins W, Gao GR., 2002. TROLL—Tandem Repeat Occurrence Locator. *Bioinformatics* 18:634–636.
- Ceyhan, E., Harmankaya, M., Kahraman, A., 2014. Combining ability and heterosis for concentration of mineral elements and protein in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Turkish J. Agric. For.* 38: 581–590. <https://doi.org/10.3906/tar-1307-56>
- Chanwitheesuk A, Teerawutgulrag A, Rakariyatham N., 2005. Screening of antioxidants activity and antioxidant compounds of some edible plants of Thailand. *Food Chem* 92:491-497
- Charlesworth, D. and Willis, J., 2009. The genetics of inbreeding depression, *Nat. Rev. Genet.* 10: 783–796. doi 10.1038/nrg2664
- Checa OE, Blair MW., 2008. Mapping QTL for climbing ability and component traits in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Mol Breed* 22:201–215
- Chen J. The Hardy-Weinberg principle and its applications in modern population genetics. *Front Biol* 5:348–353.
- Cheyrier, V., Comte, G., Davies, K.M., Lattanzio, V., Martens, S., 2013. Plant phenolics: recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. *Plant Physiology and Biochemistry* 72: 1–20.
- Chigeza G, Mashingaidze K, Shanahan P., 2014. Advanced cycle pedigree breeding in sunflower. II: combining ability for oil yield and its components. *Euphytica* 195(2): 183-195.
- Choudhury, D.R., Singh, N., Singh, A.K., Kumar, S., Srinivasan, K., Tyagi, R.K., Ahmad, A., Singh, N.K., Singh, R., 2014. Analysis of genetic diversity and population structure of rice germplasm from north-eastern region of India and development of a core germplasm set. *PLoS One* 9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0113094>
- Christie BR, Shattuck VI., 1992. The Diallel Cross: Design, Analysis, and Use for Plant Breeders. *Plant Breeding Reviews* 9: 9-36.
- Cichy KA, Blair MW, Galeano CHM, Snapp SS, Kelly JD., 2009a. QTL analysis of root architecture traits and low phosphorus tolerance in an Andean bean population. *Crop Sci* 49:59–68
- Cichy KA, Caldas GV, Snapp SS, Blair MW., 2009b. QTL analysis of seed iron, zinc, and phosphorus levels in an Andean bean population. *Crop Sci* 49:1742–1750

Cokkizgin, A., 2012. Salinity stress in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seed germination. Not. Bot. Horti Agrobot. Cluj-Napoca 40:177–182. <https://doi.org/10.15835/nbha4017493>

Collard, B.C.Y., M.Z.Z. Jahufer, J.B. Brouwer, E.C.K. Pang., 2005. An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: the basic concepts. *Euphytica*. 142(1–2): 169-196.

Córdoba, J. M., Chavarro, C., Schlueter, J. A., Jackson, S. A., and Blair, M. W., 2010. Integration of physical and genetic maps of common bean through BAC-derived microsatellite markers. *BMC Genomics* 11:436. doi: 10.1186/1471-2164-11-436

Cramer, G. R., & Nowak, R. S., 1992. Supplemental manganese improves the relative growth, net assimilation and photosynthetic rates of salt-stressed barley. *Physiologia Plantarum*, 84(4): 600-605.

Crow JF., 1993. Mutation, mean fitness, and genetic load. *Oxford Sur Evol Biol* 9:3–42

D

da Rosa, S.S., Ribeiro, N.D., Jost, E., Reiniger, L.R.S., Rosa, D.P.T., Cerutti, Possobom, M.T.D.F., 2010. Potential for increasing the zinc content in common bean using genetic improvement. *Euphytica*, 175, pp. 207-213.

da Silva, F.A., Corrêa, A.M., Teodoro, P.E., Lopes, K.V., Corrêa, C.C.G., 2017. Genetic divergence in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in the Cerrado-Pantanal ecotone. *Genet. Mol. Res.* 16: 1–11. <https://doi.org/10.4238/gmr16019570>

Darkwa, K., Ambachew, D., Mohammed, H., Asfaw, A., Blair, M.W., 2016. Evaluation of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes for drought stress adaptation in Ethiopia. *Crop J.* 4: 367–376. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2016.06.007>

David M. Francis, Heather L. Merk, Deana Namuth-Covert., 2011. Introduction to Single Marker Analysis (SMA), <http://articles.extension.org/pages/32552/introduction-to-single-marker-analysis-sma>

de Lacerda CF, Cambraia J, Oliva MA, Ruiz HA, Prisco JT., 2003. Solute accumulation and distribution during shoot and leaf development in two sorghum genotypes under salt stress. *Environ Exp Bot* 49:107–120

Deglène L, Alibert G, Lesigne P, De Labrouthe DT, Sarrafi A, 1999. Inheritance of resistance to stem canker (*Phomopsis helianthi*) in sunflower. *Plant Pathology* 48(4): 559-563.

Dehghanpour Z, Ehdaie B., 2013. Stability of general and specific combining ability effects for grain yield in elite Iranian maize inbred lines. *Journal of Crop Improvement* 27(2): 137-152.

Dey SS, Singh N, Bhaatia R, Parkash C, Chandel C., 2014. Genetic combining ability and heterosis for important vitamins and antioxidant pigments in cauliflower (*Brassica oleracea* var. *botrytis* L.). *Euphytica* 195(2): 169-181.

Di Ferdinando, M., Brunetti, C., Fini, A., Tattini, M., 2012. Flavonoids as Antioxidants in Plants under Abiotic Stresses. In: Ahmad, P., Prasad, M.N.V. (Eds.), *Abiotic Stress Responses in Plants: Metabolism, Productivity and Sustainability*. Springer, New York 159–179.

Diaz-Batalla , L. , Widholm , J.M. , Fahey , G.C. , Castano-Tostado , E. , and Paredes-Lopez , O., 2006. Chemical components with health implications in wild and cultivated mexican common bean seeds (*Phaseolus vulgaris* L.) . *Journal of Agricultural and Food Chemistry* , 54 : 2045 – 2052 .

Direction des Statistiques Agricoles et des Systèmes d'Information, 2014. Statistique agricole superficie et production Série « B », décembre 2014.

Duc, G., Agrama, H., Bao, S., Berger, J., Bourion, V., De Ron, A.M., Gowda, C.L.L., Mikic, A., Millot, D., Singh, K.B., Tullu, A., Vandenberg, A., Vaz Patto, M.C., Warkentin, T.D., Zong, X., 2015. Breeding Annual Grain Legumes for Sustainable Agriculture: New Methods to Approach Complex Traits and Target New Cultivar Ideotypes. CRC. *Crit. Rev. Plant Sci.* 34:381–411. <https://doi.org/10.1080/07352689.2014.898469>

Durand J.H., 1958. Les sols irrigables. Etude pédologique -ED.Imbert ,Alger, pp: 190.

Durand JH, 1983. Les sols irrigables. Agence de coopération culturelle et technique. Ed. Presse universitaire, pp: 339, Paris.

Duvick, D.N., 2001. Biotechnology in the 1930s: The development of hybrid maize, *Nat. Rev. Genet.*, vol. 2: 69–74. Doi 10.1038/35047587

E

Emam, Y., Shekoofa, A., Salehi, F., Jalali, A.H., 2010. Water Stress Effects on Two Common Bean Cultivars with Contrasting Growth Habits. *Environ. Sci* 9:495–499. <https://doi.org/10.1080/03650340.2010.530256>

F

Falconer, D.S., Mackay, T.F., 1996. Introduction to quantitative genetics. 4th edn. Longman, London.

Falconer, D.S., 1981. Introduction to quantitative genetics. 2nd edn. Longman, London.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations)., 2009. FAOSTAT. <http://faostat.fao.org/DesktopDefault.aspx?PageID=291&lang=fr>

FAOSTAT., 2008. Editeur technique : DANILO MEJIA FAOSTAT.

Fehr WR., 1993. Principles of cultivar development: development of hybrid cultivars. *Macmillan Publishing Company*, New York, USA 539.

Feng, Sh., Chen, X., Wu, Sh., and Chen, X., 2015. Recent advances in understanding plant heterosis, *Agric. Sci.*, vol. 6: 1033–1038. doi 10.4236/as.2015.69098

Ferri, L; Perrin, E; Campana, S; Tabacchioni, S; Taccetti, G; Cocchi, P; Ravenni, N; Dalmastrri, C; Chiarini, L; Bevivino, A; Manno, G; Mentasti, M; Fani, R., 2010. Application of multiplex single nucleotide primer extension (mSNuPE) to the identification of bacteria: The *Burkholderia cepacia* complex case. *J. Microbiol. Methods* 80: 251–256.

Flowers, T. J., 2004. Improving crop salt tolerance. *Journal of Experimental Botany* 55(396): 307-319.

Foster, JT; Allan, GJ; Chan, AP; Rabinowicz, PD; Ravel, J; Jackson, PJ; Keim, P. Single nucleotide polymorphisms for assessing genetic diversity in castor bean (*Ricinus communis*). *BMC Plant Biol* 10:13–23.

Franco AA, Preira JC, Neyra CA, 1979. Seasonal patterns of nitrate reductase and nitrogenase activities in *Phaseolus vulgaris* L. *Plant Physiol.* 63:421-424

Franco MC, Cassini ST, Oliveira VR, Vieira C, Tsai SM, et al., 2001. Combining ability for nodulation in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes from Andean and Middle American gene pools. *Euphytica* 118(3): 265-270.

Frascaroli E, Canè MA, Pè ME, Pea G, Morgante M, Landi P., 2009. QTL detection in maize testcross progenies as affected by related and unrelated testers. *Theoretical and Applied Genetics* 118(5): 993-1004.

Freeling, M., Walbot, V., 1996. The maize handbook, *Springer*. <https://doi.org/10.1007/978-1-4612-2694-9>

Freyre R, Rios R, Guzman L, Debouck DG, Gepts P., 1996. Ecogeographic distribution of *Phaseolus* spp. (*Fabaceae*) in Bolivia. *Econ Bot* 50:195–215

Freyre R, Skroch P, Geffroy V, Adam-Blondon A-F, Shirmohamadali A, Johnson W, Llaca V, Nodari R, Pereira P, Tsai S-M, Tohme J, Dron M, Nienhuis J, Vallejos C, Gepts P., 1998. Towards an integrated linkage map of common bean. 4. Development of a core map and alignment of RFLP maps. *Theor Appl Genet* 97:847–856

Fu, D., Xiao, M., Hayward, A., Fu, Y., Liu, G., Jiang, G., and Zhang, H., 2014. Utilization of crop heterosis: A review, *Euphytica*, vol. 197: 161–173. doi 10.1007/s10681-014-1103-1107

G

Gaitán-Solís, E., Duque, M. C., Edwards, K. J., and Tohme, J., 2002. Microsatellite repeats in common bean (*Phaseolus vulgaris*) isolation, characterization, and crossspecies amplification in *Phaseolus* ssp. *Crop Sci.* 42:2128–2136. doi: 10.2135/cropsci2002.2128

Galeano CH, Fernández AC, Gómez M, Blair MW., 2009. Single strand conformation polymorphism based SNP and Indel markers for genetic mapping and synteny analysis of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *BMC Genomics* 10:629. doi:10.1186/1471-2164-10-629

Galeano, C.H., Fernandez, A.C., Franco-Herrera, N., Cichy, K.A., McClean, P.E., Vanderleyden, J., Blair, M.W., 2011. Saturation of an intra-gene pool linkage map: towards a unified consensus linkage map for fine mapping and synteny analysis in common bean. *PLoS One* 6, e28135.

Gama, P.B.S., Inanaga, S., Tanaka, K., Nakazawa, R., 2007. Physiological response of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings to salinity stress. *J. Biotechnol.* 6: 79–88.

Ganesan, K., Xu, B., 2017. Polyphenol-rich dry common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and their health benefits. *Int. J. Mol. Sci.* 18. <https://doi.org/10.3390/ijms18112331>

Gao C, Ren X, Mason AS, Li J, Wang W, Xiao M, Fu D., 2013. Revisiting an important component of plant genomes: microsatellites. *Funct Plant Biol.* 40:645–645.

- Geetanjali M, Neera G., 2008. Salinity and its effects on the functional biology of legumes. *Acta Physiol Plant.* 30:595–618.
- Gemayel R, Cho J, Boeynaems S, Verstrepen KJ., 2012. Beyond Junk-Variable Tandem repeats as facilitators of rapid evolution of regulatory and coding sequences. *Genes.* 3:461–480.
- Gepts P, Bliss FA., 1988. Dissemination pathways of common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae) deduced from phaseolin electrophoretic variability. II Europe and Africa. *Econ Bot* 42:86–104
- Gepts P, Francisco JL, Aragão Everaldo de Barros, Matthew W. Blair, Rosana Brondani., 2008. Genomics of *Phaseolus* Beans, a Major Source of Dietary Protein and Micronutrients in the Tropics, In: P.H. Moore, R. Ming (eds.), Genomics of Tropical Crop Plant. *Springer*, pp. 113-143
- Ghareeb Zeinab, E., Helal, A.G., 2014. Diallel analysis and separation of genetic variance components in eight faba bean genotypes. *Ann. Agric. Sci.* 59: 147–154. <https://doi.org/10.1016/j.aoas.2014.06.019>
- Ghassemi F, Jakeman AJ, Nix HA., 1995. Salinization of land and water resources. Human causes, extent management and case studies. University of New South Wales Press Ltd, Sydney
- Gill SS, Tuteja N., 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol Biochem* 48:909–93
- Girija C, Smith B, Swamy P., 2002. Interactive effects of sodium chloride and calcium chloride on the accumulation of proline and glycinebetaine in peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Environ Exp Bot* 47:1–10
- Goff, S. and Zhang, Q., 2013. Heterosis in elite hybrid rice: Speculation on the genetic and biochemical mechanisms, *Curr. Opin. Plant Biol.*, vol. 16: 221–227. Doi 10.1016/j.pbi.2013.03.009
- Gómez, JMJ; Maloo, JN., 2009. Sequence diversity in three tomato species: SNPs, markers and molecular evolution. *BMC Plant Biol* 9: 85.
- Gonçalves-Vidigal, M.C., Silvério, L., Elias, H.T., Vidigal Filho, P.S., Kvitschal, M.V., Retuci, V.S., Da Silva, C.R., 2008. Combining ability and heterosis in common bean cultivars. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 43 : 1143–1150. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2008000900007>
- Gopa R, Dube B., 2003. Influence of variable potassium on barley metabolism. *Ann Agric Res* 24:73–77
- Griffing, B., 1956. Concept of General and Specific Combining Ability in Relation to Diallel Crossing Systems. *Aust. J. Biol. Sci.* 9: 463. <https://doi.org/10.1071/BI9560463>
- Grisi MCM, Blair MW, Gepts P, Brondani C, Pereira PAA, Brondani RPV., 2007. Genetic mapping of a new set of microsatellite markers in a reference common bean (*Phaseolus vulgaris*) population BAT93 x Jalo EEP558. *Genet Mol Res* 3:691–706
- Gupta, B., Huang, B., 2014. Mechanism of salinity tolerance in plants: Physiological, biochemical, and molecular characterization. *Int. J. Genomics* 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/701596>

H

- Hallauer AR., 1990. Methods used in developing maize inbreds. *Maydica* 35(1): 1-16.

- Hanai LR, Santini L, Camargo LEA, Fungaro MHP, Gepts P, Tsai SM, Vieira MLC., 2009. Extension of the core map of common bean with EST-SSR, RGA, AFLP, and putative functional markers. *Mol Breed* 25:25–45
- Hanemann A, Schweizer GF, Cossu R, Wicker T, Röder MS., 2009. Fine mapping, physical mapping and development of diagnostic markers for the Rrs2 scald resistance gene in barley. *Theor Appl Genet* 119:1507–1522
- Hannachi, A., Zine, F., Abidine, E., Hamenna, B., 2013. Diallel-cross analysis of grain yield and stress tolerance-related traits under semi-arid conditions in Durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *Electronic Journal of Plant Breeding* 4: 1027–1033.
- Harriman, J.C., Nwamadu, C.A., 2016. Utilization of diallel analyses for heritability, GCA and SCA studies in crop improvement. *Am. Adv. J. Biol. Sci.* 1:159–167. <https://doi.org/10.18869/AAJBS.2016.159>
- Hasegawa PM, Bressan RA, Zhu J-K, Bohnert HJ., 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annu Rev Plant Biol* 51:463–499
- Hayat, I., Ahmad, A., Masud, T., Ahmed, A., Bashir, S., 2014. Nutritional and Health Perspectives of Beans (*Phaseolus vulgaris* L.): An Overview. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 54:580–592. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.596639>
- Hayman, B.I., 1954. The theory and analysis of diallel crosses. Unit of Biometrical Genetics, Department of Genetics, University of Birmingham.
- Hayward AC, Tollenaere R, Dalton-Morgan J, Batley J., 2015. Molecular marker applications in plants. In: Batley J, editor. Plant Genotyping. *Springer*; New York, NY: pp. 13–27
- He, J.A., and Giusti, M.M., 2010. Anthocyanins: natural colorants with health-promoting properties. *Annual Review of Food Science and Technology*, 1:163 – 186.
- He XH, Xu CW, Kuai JM, Gu SL, Li T., 2001. Principal factors affecting the power of detection and accuracy of QTL mapping. *Acta Agronomica Sinica* 27: 469-475.
- Heffelfinger, C., Fragoso, C.A., Moreno, M.A., Overton, J.D., Mottinger, J.P., Zhao, H., Tohme, J., Dellaporta, S.L., 2014. Flexible and scalable genotyping-by-sequencing strategies for population studies. *BMC Genomics* 15:1–23. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-979>
- Heimler, D., Vignolini, P., Dini, M.G., Romani, A., 2005. Rapid tests to assess the antioxidant activity of *Phaseolus vulgaris* L. dry beans. *J. Agric. Food Chem.* 53:3053–3056. <https://doi.org/10.1021/jf049001r>
- Helms, T. C., and J. J. Hammond, 2006. Genetic gain equation with correlated genotype x environment effects. *Crop Sci.* 46: 1137–1142.
- Holland, J. B., W. E. Nyquist and C. T. Cervantes-Martinez, 2003. Estimating and interpreting heritability for plant breeding: an update. *Plant Breed. Rev.* 22: 9–112.
- Hsiao TC, Xu LK., 2000. Sensitivity of growth of roots versus leaves to water stress: biophysical analysis and relation to water transport. *J Exp Bot* 51:1595–1616

Hu Y, Schmidhalter U, 2001. Reduced cellular crosssectional area in the leaf elongation zone of wheat causes a decrease in dry weight deposition under saline conditions. *Aust. J. Plant Physiol* 28: 165-170.

Hua JP, Xing YZ, Wu WR, Xu CG, Sun XL, et al., 2003. Single-locus heterotic effects and dominance-by-dominance interactions can adequately explain the genetic basis of heterosis in an elite rice hybrid. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100(5): 2574-2579.

I

Iqbal, A.M., Nehvi, F.A., Wani, S.A., Dar, Z.A., Lone, A.A., Qadri, H., 2012. COMBINING ABILITY STUDY OVER ENVIRONMENTS IN DRY BEANS (*Phaseolus vulgaris* L.). *SAARC J. Agri.* 10:61–69.

Islam, A., Jahan M.M.A., Newaz, M.A., 2006. Diallel Analysis for Gene Action in Dry Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Bangl. J. Pl. Breed. Genet.* 19(2):07-14.

J

Jacoby RP, Taylor NL, Millar AH., 2011. The role of mitochondrial respiration in salinity tolerance. *Trends Plant Sci* 16:614–623

Jaleel CA, Gopi R, Manivannan P, Panneerselvam R., 2007. Antioxidative potentials as a protective mechanism in *Catharanthus roseus* L. G. Don. Plants under salinity stress. *Turk J Bot* 31:245—251

Jones GW, Gorham J., 2002. Intra- and inter-cellular compartmentation of ions. In: Läuchli A, Lüttge U (eds) Salinity: environment-plants-molecules. *Kluwer, Dordrecht*, pp 159–180

Joshi SK, Sharma SN, Singhania DL, Sain RS., 2004. Combining ability in the F₁ and F₂ generations of diallel cross in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L. em. Thell). *Hereditas* 141(2): 115-121.

K

Kalaisekar A., P.G.Padmaja, V.R.Bhagwat, J.V.Patil., 2017. Pest Management Strategies and Technologies, *Academic press* pp 143-183.

Kalia, R.K., et al., 2011. Microsatellite Markers: An Overview of the Recent Progress in Plants. *Euphytica*, 177:309- 334. <http://dx.doi.org/10.1007/s10681-010-0286-9>

Karimi G, Ghorbanli M, Heidari H, Nejad RK, Assareh M., 2005. The effects of NaCl on growth, water relations, osmolytes and ion content in *Kochia prostrata*. *Biol Plant* 49:301–304

Khadri, M., Tejera, N.A., Lluch, C., 2007. Sodium chloride-ABA interaction in two common bean (*Phaseolus vulgaris*) cultivars differing in salinity tolerance. *Environ. Exp. Bot.* 60:211–218. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2006.10.008>

Khaled AGA, Hamam KA, Motawea MH, El-Sherbeny GAR., 2013. Genetic studies on tissue culture response and some agronomical traits in Egyptian bread wheat. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology* 11: 79-86.

Khan MA Gul B, Weber DJ., 2002. Seed germination in relation to salinity and temperature in *Sarcobatus vermiculatus*. *Biologia Plantarum* 45: 133–135.

- Khan, M.H., Panda, S.K., 2008. Alterations in root lipid peroxidation and antioxidative responses in two rice cultivars under NaCl-salinity stress. *Acta Physiol. Plant.* 30:81–89. <https://doi.org/10.1007/s11738-007-0093-7>
- Khotyleva, L. V., Kilchevsky, A. V., Shapturenko, M.N., 2017. Theoretical aspects of heterosis. *Russ. J. Genet. Appl. Res.* 7:428–439. <https://doi.org/10.1134/S2079059717040049>
- Khotyleva, L.V., Razumovich, A.N., and Titok, V.V., 1991. *Bioenergeticheskie protsessy pri geterozise* (Bioenergetic Processes in Heterosis), Minsk.
- Khotyleva, L.V., Tarutina, L.A., Kapusta, I.B., and Mishin, L.A., 2005. Epistasis and heterosis in hybrids of greenhouse tomato, in *Agroekologiya: Sb. nauchn. tr. "Ekologicheskie osnovy plodoovoshchevodstva"* (Agroecology: Proc. Ecological Foundations of Fruit and Vegetable Growing), Gorki, vol. 2: 143–146.
- Kofler R, Schlotterer C, Lelley T., 2007. SciRoKo: a new tool for whole genome microsatellite search and investigation. *Bioinformatics* 23:1683–1685.
- Koinange EMK, Singh SP, Gepts P., 1996. Genetic control of the domestication syndrome in common-bean. *Crop Sci* 36:1037–1045
- Koleckar , V. , Kubikova, K. , Rehakova, Z. , Kuca, K. , Jun, D. , Jahodar, L., and Opletal, L., 2008. Condensed and hydrolysable tannins as antioxidants influencing the health . *Mini Reviews in Medicinal Chemistry* 8 : 436– 447.
- Kontopoulou, C.K., Bilalis, D., Pappa, V.A., Rees, R.M., Savvas, D., 2015. Effects of organic farming practices and salinity on yield and greenhouse gas emissions from a common bean crop. *Sci. Hortic. (Amsterdam)* 183:48–57. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.12.012>
- Kottek, M., Grieser, J., Beck, C., Rudolf, B., Rubel, F., 2006. World map of the Köppen-Geiger climate classification updated. *Meteorol. Zeitschrift* 15:259–263. <https://doi.org/10.1127/0941-2948/2006/0130>
- Kristin Bilyeu., Milind B Ratnaparkhe., Chittaranjan Kole., 2010. Genetics, Genomics, and Breeding of Soybean, Genetics, *Genomics and Breeding of Crop Plants*. <https://doi.org/10.1201/b10192>
- Kwak M, Kami J, Gepts P., 2009. The putative Mesoamerican domestication center of *Phaseolus vulgaris* is located in the Lerma-Santiago Basin of Mexico. *Crop Sci* 49:554–563

L

- Lande R, Thompson R., 1990. Efficiency of marker-assisted selection in the improvement of quantitative traits. *Genetics* 124(3): 743-756.
- Läuchli A., 1984. Salt exclusion: an adaptation of legumes for crops and pastures under saline conditions. In: Staples RC, Toenniessen GH (eds) *Salinity tolerance in plants: strategies for crop improvement*. Wiley, New York, pp 155–159.
- LE GOUPIL J.C., 1974. *Agronomie Tropicale. Série 3 : Séminaire "développement rural*.

- Li R, Xiao L, Wang J, Lu Y, Rong T, et al., 2013. Combining ability and parent-offspring correlation of maize (*Zea mays* L.) grain β -carotene content with a complete diallel. *Journal of Integrative Agriculture* 12(1): 19-26.
- Li ZK, Luo LJ, Mei HW, Wang DL, Shu QY, et al., 2001. Overdominant epistatic loci are the primary genetic basis of inbreeding depression and heterosis in rice. I. Biomass and grain yield. *Genetics* 158(4): 1737-1753.
- Libault M, Farmer A, Joshi T, Takahashi K, Langley R, et al., 2010. An integrated transcriptome atlas of the crop model *Glycine max*, and its use in comparative analyses in plants. *Plant J* 63: 86–99.
- Lin, P. C., Hwang, S. G., Endo, A., Okamoto, M., Koshihara, T., and Cheng, W. H., 2007. Ectopic expression of ABSCISIC ACID 2/GLUCOSE INSENSITIVE 1 in Arabidopsis promotes seed dormancy and stress tolerance. *Plant Physiol* 143:745–758. doi: 10.1104/pp.106.084103
- Liu XC, Chen SG, Chen JS, Ishiki K, Wang WX, et al., 2004. Improvement of combining ability for restorer lines with the identified SSR markers in hybrid rice breeding. *Breeding Science* 54(4): 341-346.
- LV Ai-zhi, Zhang H, Zhang Z, Tao Y, Yue B, et al., 2012. Conversion of the statistical combining ability into a genetic concept. *Journal of Integrative Agriculture* 11: 43-52.

M

- Machida L, Derera J, Tongoona P, MacRobert J., 2010. Combining ability and reciprocal cross effects of elite quality protein maize inbred lines in subtropical environments. *Crop Science* 50(5): 1708-1717.
- Mag, P., Liao, H., Dong, W., Shi, X., Liu, H., Yuan, K., 2012. Analysis and comparison of the active components and antioxidant activities of extracts from *Abelmoschus esculentus* L. *Pharmacogn Mag* 8(30):156-61. doi: 10.4103/0973-1296.96570.
- Mahajan S, Tuteja N., 2005. Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Arch Biochem Biophys* 444:139–158
- Makanda I, Tongoona P, Derera J, Sibiyi J, Fato P., 2010. Combining ability and cultivar superiority of sorghum germplasm for grain yield across tropical low- and mid-altitude environments. *Field Crops Research* 116: 75-85.
- Marschner H., 1995. Mineral nutrition of higher plants. Academic, London
- Mason AS., 2015. SSR Genotyping. In: Batley J, editor. Plant Genotyping. Springer; New York, NY: pp. 77–89.
- Mather, K., 1955. The genetical basis of heterosis, *Proc. Roy. Soc., Ser. B*, vol. 144: 915.
- Mei HW, Li ZK, Shu QY, Guo LB, Wang YP, et al., 2005. Gene actions of QTLs affecting several agronomic traits resolved in a recombinant inbred rice population and two backcross populations. *Theoretical and Applied Genetics* 110(4): 649-659.
- Melchinger A, Schmit W, Geiger HH., 1998. Comparison of testcrosses from F₂ and first backcross populations in maize. *Crop Science* 28(5): 743-749.

- MERMOUD A., 2006. Cours de physique du sol : Maîtrise de la salinité des sols. Ecole polytechnique fédérale de lausanne, pp : 23.
- Miller G, Suzuki N, Ciftci-Yilmaz S, Mittler R., 2010. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. *Plant Cell Environ* 33:453–467
- Mittler R, Vanderauwera S, Suzuki N, Miller G, Tognetti VB, Vandepoele K, Gollery M, Shulaev V, Van Breusegem F., 2011. ROS signaling: the new wave?. *Trends Plant Sci* 16:300–309
- Mohammadi, R., Mendioro, M.S., Diaz, G.Q., Gregorio, G.B., Singh, R.K., 2014. Genetic analysis of salt tolerance at seedling and reproductive stages in rice (*Oryza sativa*). *Plant Breed* 133:548–559. <https://doi.org/10.1111/pbr.12210>
- Mohouche B et Boulassel A., 1999. Contribution à une meilleure maîtrise des pertes en eau d'irrigation et de la salinisation des sols en zones arides. *Recherches Agronomiques* pp :15-23.I.N.R.A.Alger.
- Moterle LM, Braccini AL, Scapim CA, Pinto RJB, Gonçalves LSA, et al., 2012. Combining ability of popcorn lines for seed quality and agronomic traits. *Euphytica* 185(3): 337-347.
- Mukankusi, C., Derera, J., Melis, R., Gibson, P.T., Buruchara, R., 2011. Genetic analysis of resistance to Fusarium root rot in common bean. *Euphytica* 182:11–23. <https://doi.org/10.1007/s10681-011-0413-2>
- Müller, B. S. F., Sakamoto, T., Menezes, I. P. P., Prado, G. S., Martins, W. S., Brondani C., Barros, E. G., Vianello, R. P., 2014. Analysis of BAC-end sequences in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) towards the development and characterization of long motifs SSRs. *Plant Molecular Biology* 86 (4-5): 455-470. DOI: 10.1007/s11103-014-0240-7
- Munns R, Hare R, James R, Rebetzke G., 1999. Genetic variation for improving the salt tolerance of durum wheat. *Crop Pasture Sci* 51:69–74
- Munns R, Termaat A, 1986. Whole plant responses to salinity. *Aust J Plant Physiol* 13:143-160.
- Munns R., 2002. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell Environ* 25:239–250
- Munns R., 2005. Genes and salt tolerance: bringing them together. *New Phytol* 167:645–663
- Murphy LR, Kinsey ST, Durako MJ., 2003. Physiological effects of short-term salinity changes on *Ruppia maritima*. *Aquat Bot* 75:293–309

N

- Navarro JM, Flores P, Garrido C, Martinez V., 2006. Changes in the contents of antioxidant compounds in pepper fruits at ripening stages, as affected by salinity. *Food Chem* 96:66-73
- Ndèye FD., 2002. Utilisation des inoculums de *rhizobium* pour la culture du haricot (*Phaseolus vulgaris*) au Sénégal. Thèse de docteur de biologie végétale. pp : 97. Faculté des Sciences et Techniques, Université Cheikh Anta Diop , Dakar, Sénégal.

Nei, M., 1987. Genetic distance and molecular phylogeny. In: *Population Genetics and Fishery Management* (N. Ryman and F. Utter, eds.), University of Washington Press, Seattle, WA, pp: 193-223.

Nodari RO, Tsai SM, Gilbertson RL, Gepts P., 1993a. Towards an integrated linkage map of common bean. II. Development of an RFLP-based linkage map. *Theor Appl Genet* 85:513–520

Nodari RO, Tsai SM, Guzmán P, Gilbertson RL, Gepts P. 1993b. Towards an integrated linkage map of common bean. III. Mapping genetic factors controlling host-bacteria interactions. *Genetics* 134:341–350

Noh A, Rafii MY, Saleh G, Kushairi A, Latif MA., 2012. Genetic performance and general combining ability of oil palm Deli dura x AVROS pisifera tested on inland soils. *The Scientific World Journal* 792601: 1-8.

Noreen Z , Ashrafa M., 2009. Assessment of variation in antioxidative defense system in salt-treated pea (*Pisum sativum*) cultivars and its putative use as salinity tolerance markers. *Plant Physiol* 166: 1764-1774

Nothlings , U. , Murphy , S.P. , Wilkens , L.R. , Henderson , B.E. , and Kolonel , L.N., 2007. Flavonols and pancreatic cancer risk - The multiethnic cohort study . *American Journal of Epidemiology* , 166 : 924 – 931 .

Nyquist, W. E., 1991. Estimation of heritability and prediction of selection response in plant populations. *Crit. Rev. Plant Sci.* 10: 235–322.

O

Oakey, H., A. Verbyla, W. Pitchford, B. Cullis and H. Kuchel, 2006. Joint modelling of additive and non-additive genetic line effects in single field trials. *Theor. Appl. Genet.* 113: 809–819.

Obaton M, Miquel M, Robin P, Conejero G, Domenach AM, Bardin R, 1982. Influence d'un déficit hydrique sur l'activité nitrate réductase et nitrogénase chez le soja. *CR.Acad. Sei. (Paris)* 294:1007-1112.

Ochoa IE, Blair MW, Lynch JP., 2006. QTL analysis of adventitious root formation in common bean under contrasting phosphorus availability. *Crop Sci* 46:1609–1621

Oomah , B.D. , Corbe , A. , and Balasubramanian , P ., 2010. Antioxidant and anti-inflammatory activities of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) hulls . *Journal of Agricultural and Food Chemistry* , 58 : 8225 – 8230.

P

Papa R, Acosta J, Delgado-Salinas A, Gepts P., 2005. A genome-wide analysis of differentiation between wild and domesticated *Phaseolus vulgaris* from Mesoamerica. *Theor Appl Genet* 111:1147–1158

Parida, A. K., & Das, A. B., 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60(3):324-349.

Pereira GS, Nunes ES, Laperuta LDC, Braga MF, Penha HA, Diniz AL, Munhoz CF, Gazaffi R, Garcia AAF, Vieira MLC. 2013. Molecular polymorphism and linkage analysis in sweet passion fruit, an outcrossing species: Molecular map in sweet passion fruit. *Ann Appl Biol.* 162:347–361. doi: 10.1111/aab.12028.

Pérez-Jiménez M, Besnard G, Dorado G, Hernandez P., 2013. Varietal tracing of virgin olive oils based on plastid DNA variation profiling. *PLoS One.* <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0070507>

Perseguiñi, J.M.K.C., Chioratto, A.F., Zucchi, M.I., Colombo, C.A., Carbonell, S.A.M., Mondego, J.M.C., Gazaffi, R., Garcia, A.A.F., de Campos, T., de Souza, A.P., Rubiano, L.B., 2011. Genetic diversity in cultivated carioca common beans based on molecular marker analysis. *Genet. Mol. Biol.* 34:88–102. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572011000100017>

Peter-Schmid M., Boller B. & Kölliker R., 2008. Habitat and management affect genetic structure of *Festuca pratensis* but not *Lolium multiflorum* ecotype populations. *Plant Breeding* 127 (5):510–517

Phumichai C, Phumichai T, Wongkaew A., 2015. Novel chloroplast microsatellite (cpSSR) markers for genetic diversity assessment of cultivated and wild *Hevea* rubber. *Plant Mol Biol Report.* 33:1486–1498.

Pimentel, D.; Berger, B.; Filiberto, D.; Newton, M.; Wolfe, B; Karabinakis, E.; Clark, S.; Poon, E.; Abbett, E.; Nandaopal, S., 2004. Water Resources: Agricultural and Environmental Issues. *BioScience* 54:909–918.

Pinheiro, C., Baeta, J.P., Pereira, A.M., Domingues, H., Ricardo, C.P., 2010. Diversity of seed mineral composition of *Phaseolus vulgaris* L. germplasm. *J. Food Compos. Anal.* 23:319–325. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2010.01.005>

Q

Qi H, Huang J, Zheng Q, Huang Y, Shao R, et al., 2013. Identification of combining ability loci for five yield related traits in maize using a set of testcrosses with introgression lines. *Theoretical and Applied Genetics* 126(2): 369-377.

Qu Z, Li L, Luo J, Wang P, Yu S, et al., 2012. QTL mapping of combining ability and heterosis of agronomic traits in rice backcross recombinant inbred lines and hybrid crosses. *PLoS One* 7(1): e28463.

R

Rao, A., Venkata, P., Kumari, P.K., Surya, T., Mohan, S., Venkata, M., Rao, S., 2012. Genetic Analysis of Sodium Content and Na / K Ratio in Relation to Salinity Tolerance in Pearl Millet (*Pennisetum glaucum* L.) R . Br . *J. Crop Sci. Biotech.* pp:195–203.

Rania M.A. Nassar, Yasser M. Ahmed and Mohamed S. Boghdady, 2010. Botanical Studies on *Phaseolus vulgaris* L. I-Morphology of Vegetative and Reproductive Growth. *International Journal of Botany* 6: 323-333.

Reginato M, Castagna A, Furlan A, Castro S, Ranieri A, Luna V., 2014. Analysis of the oxidative damage in the halophyte *Prosopis strombulifera* salinized with NaCl and Na₂SO₄. Role of polyphenols as antioxidant protection. *AoB Plants* 6 plu042; doi:10.1093/aobpla/ plu042

Rengasamy P., 2006. World salinization with emphasis on Australia. *J Exp Bot* 57:1017-1023.

Rosenzweig, M. L., 1995. Species Diversity in Space and Time. Cambridge University Press, New York, NY.

Roy SJ, Negrao S, Tester M., 2014. Salt resistant crop plants. *Curr Opin Biotechnol* 26:115–124

Rozena, J., Flowers, T., 2008. Crops for a salinized world. *Science*, 322, 1478.

S

Santalla, M., de Ron, A.M., de La Fuente, M., 2010. Integration of genome and phenotypic scanning gives evidence of genetic structure in Mesoamerican common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces from the southwest of Europe. *Theor. Appl. Genet.* 120:1635–1651. <https://doi.org/10.1007/s00122-010-1282-0>

Selmar D, Kleinwächter M., 2013. Influencing the product quality by deliberately applying drought stress during the cultivation of medicinal plants. *Ind Crop Prod* 42:558—566

Semagn, K., Babu, R., Hearne, S., Olsen, M., 2014. Single nucleotide polymorphism genotyping using Kompetitive Allele Specific PCR (KASP): Overview of the technology and its application in crop improvement. *Mol. Breed.* 33:1–14. <https://doi.org/10.1007/s11032-013-9917-x>

Senan, S., Kizhakayil, D., Sasikumar, B., Sheeja, T. E., 2014. Methods for development of microsatellite markers: an overview. *Notulae Scientia Biologicae* 6(1):1-13. DOI: 10.15835/nsb.6.1.9199

Senbetay, T., Varieties, V.L., 2015. Combining Ability of Commercial White Pea Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Varieties in South Western Ethiopia. *J. Biol. Agric. Healthc.* 5:153–162.

Shannon CE, Weaver W, 1963. The Mathematical Theory of Communication. Urbana, IL, USA: University of Illinois Press.

Shapturenko, M.N., Tarutina, L.A., Mishin, L.A., Kubrak, S.V., Kilchevskiy, A.V., and Khotyleva, L., 2015. The possibilities of the prediction of the genetic potential of the tomato (*Solanum lycopersicum* L.) F1 based on the assessment of a simple sequence research polymorphism, *Russ. J. Genet.: Appl. Res.*, 5: 486–493. Doi 10.1134/S207905971505010X

Sharma Jawahar R., 2006. Statistical and Biometrical Techniques in Plant Breeding. New Age International.

Shavrukov, Y., 2013. Salt stress or salt shock: which genes are we studying?. *J. Exp. Bot.* 63:695–709. <https://doi.org/10.1093/jxb/err313>

Shikano T, Nakadate M, Fujio Y., 2000. An experimental study on strain combinations in heterosis in salinity tolerance of the guppy *Poecilia reticulata*. *Fisheries Science* 66(4): 625-632.

Shirokova, Y., Forkutsa, I., Sharafutdinova, N., 2000. Use of electrical conductivity instead of soluble salts for soil salinity monitoring in Central Asia. *Irrigation Drainage System* 14: 199-205.

Shrivastava, P.; Kumar, R., 2015. Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. *Saudi J. Biol. Sci.* 22:123–131.

Shukla SK, Pandey MP., 2008. Combining ability and heterosis over environments for yield and yield components in two-line hybrids involving thermosensitive genic male sterile lines in rice (*Oryza sativa*L.). *Plant Breeding* 127(1): 28-32.

Shull, G.H., 1908. The composition of a field of maize, *Am.Breed. Assoc. Rep.* 4: 296–301. <http://old.weedtowonder.org/hybrid/papers/>.

Shull, G.H., 1914. Duplicated genes for capsule form in *Bursa bursapastoris*, *Z. Indukt. Abstamm.-Vererbungs.* 12: 97–149.

Singh I, Paroda RS, Behl RK., 1986. Diallel analysis for combining ability over environments in wheat. *Wheat Information Services* 61/62: 74-76.

Singh SP., 2001. Broadening the genetic base of common bean cultivars: a review. *Crop Sci* 41:1659–1675

Smith JSC, EC Chin, H Shu, OS Smith, SJ Wall,ML Senior, SE Mitchell, S Kresovich and J Ziegler., 1997. An evaluation of the utility of SSR loci as molecular markers in maize (*Zea mays* L.) comparisons with data from RFLPS and pedigree. *Theor.Appl. Genet.* 95: 163-173.

Smith JSC, Hussain T, Jones ES, Graham G, Podlich D, et al., 2008. Use of doubled haploids in maize breeding: implications for intellectual property protection and genetic diversity in hybrid crops. *Molecular Breeding* 22(1): 51-59.

Souza LM, Gazaffi R, Mantello CC, Silva CC, Garcia D, Le Guen V, Cardoso SEA, Garcia AAF, Souza AP., 2013. QTL Mapping of growth-related traits in a full-sib family of rubber tree (*Hevea brasiliensis*) evaluated in a sub-tropical climate. *PLoS One* 8(4): e61238.

Springer, N. and Stupar, R., 2007. Allelic variation and heterosis in maize: How do two halves make more than whole?, *Genome Res.* 17:264–275. doi 10.1101/gr.5347007

Štajner, N., Tomić, L., Ivanišević, D., Korać, N., Cvetković-Jovanović, T., Beleski, K., Angelova, E., Maraš, V., Javornik, B., 2014. Microsatellite inferred genetic diversity and structure of Western Balkan grapevines (*Vitis vinifera* L.). *Tree Genet. Genomes* 10:127–140. <https://doi.org/10.1007/s11295-013-0670-4>

Stuber CW., 1994. Success in the use of molecular markers for yield enhancement in corn, In Proceedings of 49th Annual Corn and Sorghum Industry Research Conference 232–238, ASTA, Washington D.C., USA.

Su CF, Zhao TJ, Ga JY., 2010. Simulation comparisons of effectiveness among QTL mapping procedures of different statistical genetic models. *Acta Agronomica Sinica* 36: 1100-1107.

T

Taïbi K., Taïbi F., Ait Abderrahim L., Ennajah A., Belkhodja M., José Miguel Mulet, 2016. Effect of salt stress on growth, chlorophyll content, lipid peroxidation and antioxidant defence systems in *Phaseolus vulgaris* L. *South African Journal of Botany* 105:306–312.

Talaat, N.B., 2015. Effective Microorganisms Improve Growth Performance and Modulate the ROS-Scavenging System in Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Plants Exposed to Salinity Stress. *J. Plant Growth Regul.* 34:35–46. <https://doi.org/10.1007/s00344-014-9440-2>

- Temnykh S, DeClerck G, Lukashova A, Lipovich L, Cartinhour S, McCouch S., 2001. Computational and experimental analysis of microsatellites in rice (*Oryza sativa* L.): frequency, length variation, transposon associations, and genetic marker potential. *Genome Res.* 11:1441–1452.
- Tester M, Davenport R., 2003. Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants. *Ann Bot* 91:503–527
- Thiel T, Michalek W, Varshney R, Graner A., 2003. Exploiting EST databases for the development and characterization of gene-derived SSR-markers in barley (*Hordeum vulgare* L.) *Theor Appl Genet.* 106:411–422.
- Tiruneh, M.A., Ali, H.M., Zelleke, H., 2013. Estimation of Better Parent and Economic Heterosis for Yield and Associated Traits in Common Beans. *J. Appl. Biosci.* 5706–5714. <https://doi.org/10.4314/jab.v71i1.98814>
- Titok, V.V., 2002. Bioenergetic bases of formation of heterosis in agricultural plants, *Genetika i selektsiya v XXI veke: Mater. VIII s"ezda BOGiS* (Genetics and Breeding in the 21st Century: Proc. VIII Congress of BOGiS), Minsk, pp. 163–165.
- Topal A, Aydın C, Akgun N, Babaoglu M., 2004. Diallel cross analysis in durum wheat (*Triticum durum* Desf.): identification of best parents for some kernel physical features. *Field Crops Research* 87: 1-12.
- Tóth, G., Gaspari, Z., and Jurka, J., 2000. Microsatellites in different eukaryotic genome, survey and analysis. *Genome Res.* 10: 1967–1981.
- Townsend T, Segura V, Chigeza G, Penfield T, Rae A, et al., 2013. The use of combining ability analysis to identify elite parents for *Artemisia annua* F₁ hybrid production. *PLoS One* 8(4): e61989.
- Trindade, R.D., do Amaral, A.T., Rodrigues, R., Viana, J.M.S., Pereira, M.G., Goncalves, L.S.A., 2011. Combining ability for morphoagronomic traits in common bean and snap bean. *African J. Agric. Res.* 6, 6240–6245. <https://doi.org/10.5897/ajar11.1585>
- Tsuchihashi, Z; Dracopoli, NC, 2002. Progress in high-throughput SNP genotyping methods. *Pharmacogenomics J* 2, 103–110.
- Turbin, N.V., 1961. *Geterozis. Teoriya i metody prakticheskogo ispol'zovaniya* (Heterosis. Theory and Methods of Practical Use), Minsk.
- Tuteja N, Mahajan S (2007) Calcium signaling network in plants: an overview. *Plant Signal Behav* 2:79–85
- V**
- Vallejos, C. E., Sakiyama, N. S., and Chase, C. D., 1992. A molecular marker-based linkage map of *Phaseolus Vulgaris* L. *Genetics* 131:733–740.
- Van Breusegem, F., Dat, J.F., 2006. Reactive oxygen species in plant cell death. *Plant Physiology* 141: 384–390.
- van Eijk, M.J.T et al., 2004a. SNPWaveTM: a flexible multiplexed SNP genotyping technology. *Nucleic Acids Res.* 32:47e–47. <https://doi.org/10.1093/nar/gnh045>

Vandermeer J., Noordwijk M.van, Anderson J., Chin Ong, Perfecto I., 1998. Global change and multi-species agroecosystems. Concepts and issues. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 67: 1-22

Van-Eijk, MJT; Broekhof, JLN; van-der-Poel, HJA; Hogers, RCJ; Schneiders, H; Verstege, KJE; van-Aart, JW; Geerlings, H; Buntjer, JB; van-Oeveren, AJ; Vos, P., 2004b. SNPWave: A flexible multiplexed SNP genotyping technology. *Nucl. Acids Res* 32:e47.

Verma OP, Srivastava HK., 2004. Genetic component and combining ability analyses in relation to heterosis for yield and associated traits using three diverse rice-growing ecosystems. *Field Crops Research* 88: 91-102.

Villordo-Pineda, E., González-Chavira, M.M., Giraldo-Carbajo, P., Acosta-Gallegos, J.A., Caballero-Pérez, J., 2015. Identification of novel drought-tolerant-associated SNPs in common bean (*Phaseolus vulgaris*). *Front. Plant Sci.* 6:1–9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00546>

W

Wang B, Gu W, Gao H, Hu G, Yang R., 2014a. Longitudinal genetic analysis for growth traits in the complete diallel cross of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 430: 173-178.

Wang, Y., Mette, M., Miedaner, Th., Gottwald, M., Wilde, P., Reif, J., and Zhao, Y., 2014b. The accuracy of prediction of genomic selection in elite hybrid rye populations surpassed the accuracy of marker-assisted selection and is equally augmented by multiple field evaluation locations and test years, *BMS Genomics* 15:556. doi 10.1186/ 1471-2164-15-556

Wassimi NN, Isleib TG, Hosfield GL., 1986. Fixed effect genetic analysis of a diallel cross in dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 72(4): 449-454.

Wu N, Matand K, Wu H, Li B, Li Y, et al., 2013. *De novo* next-generation sequencing, assembling and annotation of *Arachis hypogaea* L. Spanish botanical type whole plant transcriptome. *Theor Appl Genet* 126: 1145–1149.

Wynne, J.C., Every, D.A., Rice, P.W., 1970. Combining ability in *Arachis hypogaea* L.G. Field performance of F1 hybrids. *Crop Sci.* 10 (6):713–715.

<http://www.lgcgenomics.com>

X

Xue Z-Y, Zhi D-Y, Xue G-P, Zhang H, Zhao Y-X, Xia G-M., 2004. Enhanced salt tolerance of transgenic wheat (*Triticum aestivum* L.) expressing a vacuolar Na⁺/H⁺ antiporter gene with improved grain yields in saline soils in the field and a reduced level of leaf Na⁺. *Plant Sci* 167:849–859

Y

Yu K, Park SJ, Poysa V, Gepts P., 2000. Integration of simple sequence repeat (SSR) markers into a molecular linkage map of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *J Hered* 91: 429–434

Z

- Zeng L, Pettigrew WT., 2015. Combining ability, heritability, and genotypic correlations for lint yield and fiber quality of Upland cotton in delayed planting. *Field Crops Research* 171: 176-183.
- Zhang Y, Kang MS., 1997. DIALLEL-SAS: a SAS program for Griffing's diallel analyses. *Agronomy Journal* 89(2): 176-182.
- Zhu, JK., 2003. Regulation of ion homeostasis under salt stress. *Curr Opin Plant Biol* 6:441–445
- Zhu, JK., 2005. Plant salt tolerance. *Trends Plant Sci* 6:66–71
- Zhu, JK., 2007. Plant Salt Stress: John Wiley & Sons, Ltd.
- Zongo, A., Khera, P., Sawadogo, M., Shasidhar, Y., Sriswathi, M., Vishwakarma, M.K., Sankara, P., Ntare, B.R., Varshney, R.K., Pandey, M.K., Desmae, H., 2017. SSR markers associated to early leaf spot disease resistance through selective genotyping and single marker analysis in groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *Biotechnol. Reports* 15:132–137. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2017.07.005>

Nom : Torche Prénom : Yacine	Diplôme : 3 ^{ème} cycle LMD
	Date de soutenance : 25 Avril 2019
Identifications des déterminants génétiques pour des performances de production des polyphénols chez le haricot (<i>Phaseolus vulgaris L.</i>) dans des conditions salines.	
<p>Résumé</p> <p>L'objectif principal de la présente étude est l'évaluation de plusieurs génotypes d'haricots <i>Phaseolus vulgaris</i> L. cultivés en Algérie pour des traits phénologiques, physiologiques et biochimiques en conditions de stress salin. Selon leurs réponses à la salinité et leurs phénotypes quatre parents ont été sélectionnés. Pour mener cette étude un croisement demi-diallèle entre les parents retenus a permis de produire six hybrides F₁; les six hybrides F₁ ont été plantés pour permettre une autofécondation et la production des hybrides F₂. Tous les hybrides F₁ et F₂ et leurs parents ont été plantés dans un design aléatoire complet avec trois concentrations d'NaCl 0, 50 et 100 mM pour l'évaluation des caractères phénologiques, physiologiques et biochimiques, les résultats obtenus ont fait l'objet d'une analyse diallèle puis d'une analyse moléculaire à l'aide d'SSRs et de SNPs ainsi qu'une analyse à un seul marqueur pour mettre en évidence la corrélation entre les données phénotypiques et génétiques. L'analyse diallèle a révélé des variations génotypiques très significatives entre les quatre parents et leurs six hybrides F₁. Les aptitudes générales et spécifiques à la combinaison étaient très significatives pour tous les traits étudiés sous toutes les conditions, révélant le rôle important des effets génétiques tant additifs que dominants sur l'hérédité des caractères sous études. Les génotypes parentaux Améliore Roza et Coco nain se sont avérés les meilleurs combineurs pour la tolérance à la salinité; de plus les hybrides Amina x Améliore Roza; MGT x Améliore Roza et Coco nain x Amina ont enregistré un pourcentage d'hétérosis très significatif. L'étude moléculaire montre que les populations issues du croisement diallèle ont une grande diversité génétique ces populations peuvent être utilisées ultérieurement pour la production des RILs ; de plus l'analyse à un seul marqueur révèle que plusieurs marqueurs SSRs ont été associés aux différents traits étudiés, les marqueurs BMd37 (LG6) BM200 et ATA243 (LG1) ont montré une forte association à la production des polyphénols et des flavonoïdes totaux, ces marqueurs peuvent être liés à de grands gènes impliquant une tolérance à la salinité. Ces résultats indiquent une grande variabilité génétique chez les populations d'haricots et une possibilité d'amélioration génétique sous stress salin notamment pour la biosynthèse de métabolites secondaires.</p>	
Mots clés : <i>P. vulgaris</i> ; Salinité ; Analyse diallèle ; Marqueurs SSRs et SNPs.	

