

Transformation génétique des
embryons immatures du blé tendre
(*Triticum aestivum*) et du blé dur
(*Triticum durum*)

Iraqi D.^{1}, Hakam N.¹ et Labhilili M.¹*

*1. Unité de Biotechnologie, Centre Régional de la Recherche Agronomique
de Rabat, Institut National de la Recherche Agronomique. BP. 415, Avenue
de la Victoire, Rabat, Maroc*

Résumé

Afin d'améliorer la régénération des plants issus de l'embryogenèse somatique du blé, un milieu d'induction MS + L-Asparagine (MS Asp) qui permet une régénération efficace, reproductible et rapide a été déterminé. La transformation a été initiée sur des embryons immatures en utilisant les techniques d'Agrobacterium et de biolistique. Le plasmide PCGP contenant les gènes Gus et Bar a été utilisé. La transformation génétique du blé par Agrobacterium n'a pas donné de résultats probants. Cependant, par bombardement (biolistique), des embryons transformés ont été obtenus. Après sélection, ils ont produit des plantules via l'embryogenèse somatique. Des expériences ont été réalisées sur deux variétés de blé tendre (Tilila et Arrehane) et deux variétés de blé dur (Marzak et Karim), dans le but de déterminer l'aptitude à produire du tissu embryogène transformé, la capacité de régénération et l'efficacité de transformation génétique du blé. Le test Gus a été appliqué sur les embryons de ces différentes variétés. Les embryons testés des variétés Tilila, Marzak et Karim, ont présenté une coloration bleue qui confirme l'intégration du plasmide PCGP alors que ceux de la variété Arrehane n'ont pas présenté cette coloration et par conséquent, ils n'ont pas intégré le plasmide PCGP. Le pourcentage d'induction du tissu embryogène après 4 à 5 jours de la transformation génétique a été de 83, 87, 94% respectivement pour Karim Tilila et Marzak. La sélection sur des milieux sélectifs montre qu'en présence de 1 mg/L du Basta, le pourcentage de survie est de 37, 25 et 8% respectivement pour Tilila, Marzak et Karim. Ces pourcentages diminuent à 9, 4 et 0% respectivement pour ces trois variétés sur un milieu contenant 3 mg/L de Basta. Les plantes transformées des variétés Tilila et Marzak sont saines et montrent un aspect d'apparence normale.

Mots clés : Blé tendre, blé dur, embryon immature, transformation génétique, biolistique.

التحويل الجيني للأجنة الغير الناضجة للقمح الطري والقمح الصلب

ملخص

لقد حددنا وسط التحريض (MS+Asparagine (MS+A sp) الذي يمكن من تكاثر فعال ومنتج وسريع. التحويل الجيني للقمح ب *Agrobacterium* لم يعط نتائج ملموسة، في حين أن طريقة القذف ب *Biolistique* كانت ناجحة لأننا حصلنا على أجنة معدلة، والتي بعد انتقائها أعطت نباتات بطريقة إنتاج الأجنة الجسدية. ومن أجل تحديد القدرة على إنتاج أنسجة جنينية والقدرة على التكاثر وفعالية التحويل الجيني للقمح المعدل، حققت تجارب على سلالتين من القمح الطري (تليليا وريحان) وسلالتين من القمح الصلب (مرزاق وكريم). وهنا تم التأكد من التحويل الجيني عبر اختبار «Gus» على الأجنة للسلالات المدروسة. وقد أظهرت الأجنة المجربة لتليليا ومرزاق وكريم تلونا ازرقا، مما يدل على إدماج البلاسميد PCGP، في حين أن السلالة ريحان لم تظهر أي تلون أزرق أي أنها لم تدمج البلاسميد PCGP. ومن جهة أخرى بينت نتيجة الأجنة المحرصة على وسط محسن MS Asp، أن النسبة المئوية للأنسجة الجنينية المحرصة هي 83 و87 و94 لكريم وتليليا ومرزاق على التوالي. أما الانتقاء في وسط انتقائي بوجود 1 mg/L من Basta فقد بين أن النسبة المئوية للجينات التي بقيت حية هي 37 و25 و8 لتليليا ومرزاق وكريم على التوالي. ومع وجود 3 mg/L من Basta تتحول هذه النسب إلى 9 و4 و0 لتليليا ومرزاق وكريم على التوالي. النباتات المحولة جينيا من سلالة تليليا ومرزاق سليمة وذات هيئة عادية.

الكلمات المفتاحية: قمح طري، قمح صلب، جنين غير ناضج، تحويل جيني، قذف

Genetic transformation of bread wheat (*Triticum aestivum*) and durum wheat (*Triticum durum*) immature embryos

Abstract

To improve the regeneration system of moroccan wheat adapted varieties, a medium MS + L-Asparagine (MS Asp), which allows efficient, reproducible and fast regeneration, has been developed. Genetic transformation was initiated in immature embryos using *Agrobacterium* and biolistic systems. Plasmid PCGP with *Gus* and *Bar* genes was used. *Agrobacterium* wheat genetic transformation did not give convincing results. However, using the biolistic system, wheat transformation was successful and seedlings were obtained via somatic embryogenesis. To determine the aptitude to produce embryogenic tissue, the capacity of regeneration and the ability of the genetic transformation of wheat, experiments were carried out with two varieties of bread wheat (Tilila and Arrehane) and two varieties of durum wheat (Marzak and Karim). Test *Gus* was applied to the embryos to confirm the genetic transformation. Tilila, Marzak and Karim embryos showed a blue coloration which indicates an integration of PCGP plasmid, whereas the Arrehane embryos tested did not show a blue coloration and consequently, they did not integrate the PCGP plasmid. The percentage of embryogenic tissue induction on improved medium MS Asp, 4 to 5 days after transformation, was 83, 87 and 94% respectively for Karim, Tilila and Marzak. The percentage of embryos obtained on selected media with 1 mg/L of Basta was 37, 25 and 8% respectively for Tilila, Marzak and Karim. Selected media with 3 mg/L of Basta has produced 9, 4 and 0% of lively embryos respectively for Tilila, Marzak and Karim. The transformed plants of Tilila and Marzak varieties are healthy and show a normal appearance.

Key words : Bread wheat, durum wheat, immature embryo, genetic transformation, biolistic.

Introduction

Au Maroc, les céréales et leurs dérivés jouent un rôle nutritionnel, social et économique indéniable. En effet, la consommation moyenne annuelle en céréales est estimée à plus de 200 kg par habitant. Elles fournissent environ 2/3 des besoins énergétiques et 70% des apports protéiques dans une ration alimentaire moyenne (FAO, 2003). Dans l'alimentation animale, les céréales, la paille et le son couvrent 40% des besoins totaux en unités fourragères (FAO, 2003). En dépit d'une politique volontariste qui visait à assurer l'autosuffisance du pays en céréales et qui a permis d'atteindre une production moyenne avoisinant les 5 Million de tonne, le Maroc demeure structurellement importateur, sa consommation annuelle s'approchant de 9 à 10 Million de tonne (Duval et Bezaed, 2003).

Cependant, la culture du blé souffre des fluctuations pluviométriques inter-annuelles et des sécheresses de plus en plus fréquentes qui affectent sa production. En effet, au cours des 50 dernières années, le Maroc a connu 11 années de sécheresse qui est devenue de plus en plus fréquente depuis les années 80 (MADRPM, 1999). Cette fréquence est passée d'une année sur 5 avant les années 90 à 1 année sur 2 au cours de la dernière décennie (MADRPM, 1999). La sécheresse est donc le stress environnemental le plus important affectant la culture du blé et cause une réduction alarmante de son rendement.

L'acquisition de la tolérance à la sécheresse via l'amélioration traditionnelle exploite la possibilité d'hybridation sexuée. Cependant, les hybrides obtenus comportent un mélange des informations génétiques des parents et non seulement le gène d'intérêt que l'on souhaite transférer, ce qui impose des opérations supplémentaires souvent longues et laborieuses afin d'éliminer les propriétés indésirables. En plus, pour les stress abiotiques tels que la sécheresse, le transfert de la résistance par des approches traditionnelles est limité par la complexité des caractéristiques de tolérance (Patnaik et Khurana, 2001). Grâce aux progrès scientifiques et technologiques, la transformation génétique permet de transférer un ou plusieurs gènes sans passer par la voie sexuée. Elle ouvre donc de façon considérable les perspectives d'amélioration des espèces végétales. La construction par voie génétique de plantes mieux adaptées à des conditions de cultures difficiles, telles que la sécheresse, est un atout essentiel pour l'augmentation des rendements du blé au Maroc.

La transformation génétique par *Agrobacterium Tumefaciens* est utilisée par de nombreux laboratoires de biotechnologie pour le transfert de gènes aux cellules végétales. Cependant, pour le blé une telle bactérie présente généralement une insensibilité d'infection (Patnaik et Khurana, 2001). Toutefois, la biolistique est largement utilisée pour la transformation génétique du blé, elle a permis l'intégration de plusieurs gènes d'intérêts (Patnaik et Khurana, 2001 ; Patnaik et Khurana, 2003 ; Pellegrineschi et al., 2002 ; Pellegrineschi et al., 2004 ; Bahieldin et al., 2005). Il s'agit de forcer la pénétration de l'ADN à travers la paroi pecto-cellulosique des cellules végétales. Le principe consiste à projeter sur le tissu à transformer de petites billes d'or ou de tungstène enrobées d'ADN. L'efficacité de cette technique dépend des paramètres du bombardement, de l'état de la plante mère et du génotype employé (Pellegrineschi et al., 2002).

Plusieurs équipes dans le domaine de la tolérance aux stress abiotiques ont étudié les mécanismes d'action de la tolérance à la sécheresse et ont mis en évidence l'implication de plusieurs gènes.

Certains sucres sont des régulateurs de plusieurs gènes dont ceux impliqués dans les stress abiotiques, en plus de leur rôle dans la synthèse des métabolites primaires et des substances de réserves, telles que l'amidon et les polypeptides (Sturm, 1999 ; Iraqi et Tremblay, 2001a; Iraqi et Tremblay, 2001b ; Iraqi et al., 2004, Koch et al., 1992 ; Koch, 1996 ; Koch, 2004). Les enzymes du métabolisme carboné sont probablement critiques dans l'acquisition de la tolérance à la sécheresse. Citons comme exemple, l'augmentation des ARNases du saccharose phosphate synthase et du saccharose synthase et l'augmentation de l'expression du gène qui code pour la glycéraldéhyde 3 phosphate déhydrogénase (Ingram et Bartels, 1996) et la diminution de l'activité de l'invertase (Roitsch et Conzalez, 2004) en réponse à la sécheresse. La tréhalose phosphate synthase et la tréhalose phosphate phosphatase jouent également un rôle important dans l'acquisition de la tolérance à la sécheresse. Quand ces deux enzymes sont exprimées, la plante transgénique présente des feuilles larges, et une réponse au stress hydrique améliorée (Dunwell, 2000). D'autre part, le gène qui code pour l'aldose réductase isolé de la luzerne a été intégré dans le blé et la fonction protectrice du gène a été vérifiée. Les résultats montrent que plusieurs échantillons ont acquis une tolérance face à un stress osmotique (Pauk et al., 2002). D'autre part, la glutathione S-transférase (GST) (E.C.2.5.1.18), une enzyme soluble composée de deux sous unités de 22-27 kDa chacune, catalyse l'addition du tripeptide glutathione aux produits xenobiotiques qui ont des groupes électrophiles, ce qui lui permet la détoxification des plantes (Mc Gonigle et al., 2000 ; Kilili et al., 2004). La glutathione S-transférase répond aux différents stress environnementaux, elle permet la protection des organes et prévient les dommages cellulaires. Le niveau élevé de la glutathione S-transférase est lié au rendement élevé et à l'augmentation de la résistance aux conditions extrêmes (Kilili et al., 2004 ; Xu et al., 2002). Des plantes de tabac, avec une expression élevée de la glutathione S-transférase, sont plus tolérantes aux stress abiotiques tels que le stress osmotique (Roxas et al., 1997).

Les protéines LEA (Late Embryogenesis Abundant) jouent un rôle important dans la tolérance à la sécheresse (Caruso et al., 2002). Elle apparaissent dès le début de la dessiccation des graines et s'accumulent lors de l'embryogenèse pour disparaître progressivement au cours de la germination (Caruso et al., 2002). La transformation du blé avec le gène HVA1, qui code pour une LEA protéine, isolé de l'orge a été réussie et son intégration a été confirmée (Patnaik et Khurana, 2003). Le même gène sous le contrôle du promoteur *ubi1* du maïs a été utilisé en Egypte et une augmentation de son expression a été observée dans les feuilles et les racines (Sivamani et al., 2000). De plus, les plants transformés, avec ce gène, supportent une réduction considérable d'apport d'eau (Sivamani et al., 2000). En effet, les plants transformés, irrigués une fois en 21 jours, présentent le même rendement comparativement aux plants non transformés (témoins) irrigués 8 fois pendant la même période (Bahieldin et al., 2005). Les graines issues des plants transformés présentent le même taux de protéines que ceux produits par des plants non transformés (Bahieldin et al., 2005).

Il a été également démontré que DREB1A (élément de réponse à la déshydratation B 1A), un facteur de transcription qui reconnaît les éléments de réponse au stress hydrique, joue un rôle critique chez *Arabidopsis thaliana* dans la stimulation de l'expression des gènes de tolérance à la sécheresse (Pellegrineschi et al., 2004). Dans le cadre de recherche visant à accroître la tolérance à la sécheresse chez le blé, le gène DREB1A de *A. thaliana* a été placé sous le contrôle du promoteur inductible par le stress du gène *rd29A* et introduit chez le blé

tendre (Pellegrineschi et al., 2004). Les plantes exprimant le gène DREB1A ont montré une résistance accrue au stress hydrique (un flétrissement retardé de dix jours suite à l'interruption de l'arrosage) par rapport aux témoins lors d'expériences en serre (Pellegrineschi et al., 2004).

Il faut noter enfin, qu'aucune étude de transformation génétique sur des variétés marocaines de blé n'a été réalisée et par conséquent le comportement de ces variétés face à la manipulation génétique reste incertain. Aussi, cette étude a été menée dans l'objectif de déterminer l'aptitude des variétés marocaines de blé tendre et de blé dur à produire du tissu embryogène, leur capacité de régénération ainsi que leur efficacité de transformation génétique.

Matériels et méthodes

Matériel végétal

Les variétés de blé tendre (Tilila et Arrehane) et les variétés de blé dur (Marzak et Karim) ont été utilisées pour cette étude. Pour déterminer le milieu le plus favorable, la capacité de régénération de la variété Tilila a été comparée sur deux milieux d'induction, le milieu MS Asp et le milieu MS Nor basés sur le milieu MS (Murashigue et Skoog, 1962).

Milieu Asp	Milieu Nor
MS (milieu de base)	MS (milieu de base)
L-Asparagine (150 mg)	----
Myo-inositol (100 mg)	Myo-inositol (100 mg)
2,4 D (2 mg)	2,4 D (2 mg)
Saccharose (20 g)	Saccharose (30 g)

La transformation génétique a été initiée avec la variété Tilila. Par la suite, une étude comparative a été menée avec les variétés Tilila, Arrehane, Marzak et Karim.

Stérilisation des graines

Les graines ont été collectées 12-16 jours après l'anthèse, elles ont été stérilisées par lavage dans l'éthanol 70% (v/v) pendant 3 minutes, suivi d'un bain, d'hypochlorite de sodium additionné d'une goutte de tween 20, pendant une période de 15 minutes. Par la suite, elles ont été rincées 3 fois à l'eau distillée stérile.

Excision des embryons immatures et initiation de l'induction

Les embryons zygotiques ont été prélevés sous la loupe dans un environnement stérile, leurs axes ont été ôtés pour empêcher la germination précoce. Les embryons ont été placés dans des boîtes de Petri contenant le milieu d'induction (MS Nor) ou (MS Asp). Le milieu a été solidifié par 2,5 g de phytigel, le pH a été ajusté à 5,7 avant la stérilisation à 121°C à l'autoclave pendant 20 minutes. L'hormone 2,4 D a été stérilisée par filtration et ajoutée au milieu après refroidissement. Les boîtes de Petri ont été incubées à la noirceur à 25°C. Pour les expériences de transformation génétique, les embryons dont les cellules ont présenté une division rapide, après 3-5 jours d'incubation, ont été sélectionnés.

Préparation des particules d'or

Des particules d'or (30 mg) Bio-Rad (1 μ m) ont été placées dans un eppendorf de 1,5 ml en présence de 500 μ l d'éthanol 100%. L'échantillon a été mélangé pendant 1 à 2 minutes et centrifugé à 10 000 g pendant 10 sec. Ce lavage avec l'éthanol a été répété 2 à 3 fois. L'éthanol a été remplacé par 500 μ l d'eau distillée stérile. Le lavage avec l'eau a été répété une deuxième fois, par la suite des quantités de 50 μ l ont été conservées à 4°C. Avant le bombardement, 50 μ l de particules d'or, 5-10 μ l d'ADN, 50 μ l de chlorure de calcium 2,5 M et 20 μ l de spermidine 0,1 M ont été mélangés à l'aide d'un vortex pendant une période de 15 minutes et centrifugés à 13 000 g pendant 15 à 20 secondes. Une fois le surnageant éliminé, le culot a été suspendu dans 200 μ l d'éthanol et a été centrifugé à nouveau à 13 000 g pendant 15 à 20 secondes. Le surnageant a été à nouveau éliminé et le culot en suspension dans 50-100 μ l d'éthanol a été utilisé à des volumes de 10 μ l par bombardement. Le plasmide utilisé est le PCGP1258 contenant les gènes Gus et Bar.

Transformation génétique, sélection et régénération

Avant le bombardement, les embryons sélectionnés ont été placés au centre de la boîte de Petri pendant 4 heures dans le milieu osmotique contenant le milieu MS Asp additionné de 15% de mannitol. Après le bombardement les embryons ont été laissés sur le même milieu pendant 16 heures à 25°C à la noirceur et par la suite, transférés sur le milieu MS Asp sans mannitol pour une période de 4-5 jours. La sélection a été réalisée sur le milieu MS Asp en présence du Basta. Le tissu embryogène résistant a été ensuite transféré sur le milieu de régénération en présence du Basta. Le milieu de régénération est composé du milieu MS supplémenté de 100 mg de Myo-inositol, 2 mg d'AIA et 30 g de saccharose. Le milieu a été solidifié par 3 g de phytigel, le pH ajusté à 5,7 avant la stérilisation à 121°C à l'autoclave pendant 20 minutes. L'AIA a été stérilisée par filtration et ajoutée au milieu après refroidissement. Les plants régénérés ont été transférés au milieu d'enracinement (1/2 MS).

Test Gus

Le test Gus a été appliqué à court terme, 2 à 4 jours après bombardement et à moyen terme, 20 à 25 jours après bombardement. Les embryons ont été incubés à 37°C pendant une nuit dans une solution X-Glu composée de 0,1% 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-B-glucoronidase, 100 μ M phosphate de sodium pH 7, 0,5 μ M ferrocyanide de potassium, 0,5 μ M ferricyanide de potassium et 10 μ M EDTA.

Résultats et discussion

Pour améliorer l'embryogenèse somatique et avoir une régénération efficace et rapide, des expériences ont été lancées pour comparer différents milieux d'induction. Les résultats montrent que le milieu d'induction MS modifié (MS Asp) permet une régénération efficace reproductible et rapide. Les plantes régénérées sont vigoureuses et saines (Figure 1a) comparativement aux témoins (milieu MS Nor) (Figure 1b). Suite à ces résultats concluants, la transformation génétique du blé a été abordée.

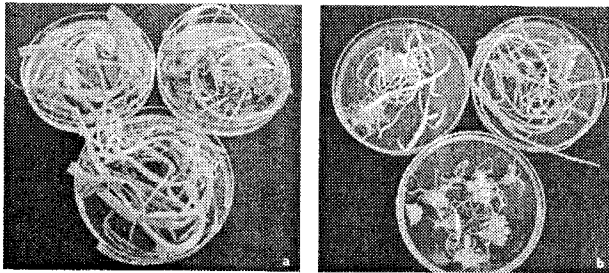


Figure 1. Régénération des plants du blé tendre via l'embryogenèse somatique.
a : Plants induits sur milieu MS Asp
b : Plants induits sur milieu MS Nor

La transformation génétique du blé par *Agrobacterium* n'a pas donné de résultats probants puisque après sélection tous les embryons ont présenté un brunissement. Cependant, des résultats intéressants ont été obtenus avec le bombardement (Biolistique). Cette technique est largement utilisée pour la transformation génétique du blé (Patnaik et Khurana, 2001 ; Patnaik et Khurana, 2003 ; Pellegrineschi et al., 2002 ; Pellegrineschi et al., 2004 ; Bahieldin et al., 2005). Il est à souligner que contrairement à l'*Agrobacterium*, la biolistique permet de mélanger plusieurs plasmides contenant les gènes d'intérêts et les marqueurs de sélection avant le bombardement ce qui lui confère une rapidité et une efficacité (Campbell et al., 2000).

Après stérilisation des graines les embryons zygotiques ont été prélevés. Les embryons dont les cellules ont présenté une division rapide, après 3-5 jours d'incubation ont été bombardés avec des particules d'or de 1 μ m enrobées de l'ADN plasmidique à une pression de 1100 psi

générée par l'Hélium (Figure 2a). Après sélection par le test Gus, les embryons testés ont présenté une coloration bleue ce qui indique une intégration du plasmide PCGP (Figure 2b). Cette étape est suivie d'une induction sur milieu amélioré MS Asp. Durant cette étape le tissu embryogène limpide, n'a présenté aucun signe de brunissement ce qui montre une induction normale (Figure 2c). A partir du tissu induit, des plants, ayant un aspect d'apparence normale, ont été régénérés (Figure 2d).

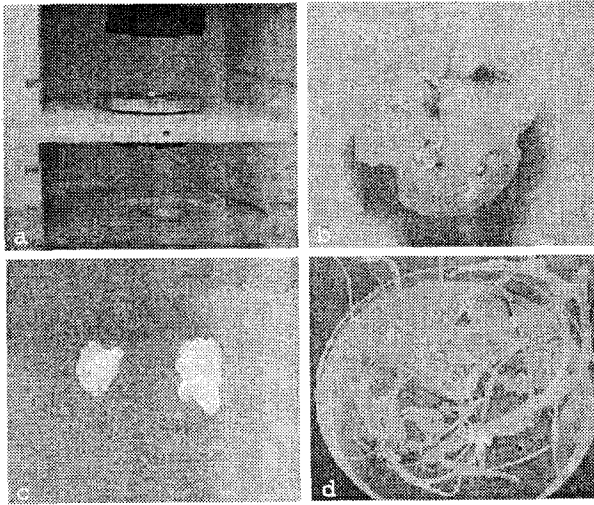


Figure 2. Les étapes de la transformation génétique par bombardement (Biolistique).

- a : Bombardement, b : Test Gus montrant un embryon transformé,
c : Induction du tissu embryogène transformé, d : Régénération des plants transformés.

Dans le but de déterminer l'aptitude à produire du tissu embryogène, la capacité de régénération et l'efficacité de transformation génétique du blé, des expériences ont été réalisées avec deux variétés de blé tendre (Tilila et Arrehane) et deux variétés de blé dur (Marzak et Karim). Les graines des quatre variétés ont été collectées 12-16 jours après l'anthèse. Elles ont été stérilisées et leurs embryons prélevés. Les embryons dont les cellules ont présenté une division rapide, après 3-5 jours d'incubation sur MS Asp, ont été sélectionnés pour la transformation génétique. Ils ont été bombardés avec des particules d'or de 1 μm enrobées d'ADN plasmidique, à une pression de 1100 psi générée par l'Hélium. La confirmation de la transformation génétique par le test Gus a été appliquée sur les embryons des variétés étudiées. Les embryons testés, des variétés Tilila, Marzak et Karim, ont présenté une coloration bleue ce qui indique une intégration du plasmide PCGP alors que les embryons testés de la variété Arrehane n'ont pas présenté cette coloration et par conséquent, ils n'ont pas intégré le gène Gus. Ceci pourrait être expliqué par le fait que la variété Arrehane n'est pas apte à la transformation génétique. Il a été montré, par ailleurs, que le choix du génotype joue un rôle essentiel dans la réussite de la transformation génétique du blé. En effet, l'équipe du Docteur Pellegrineschi a examiné 129 génotypes pour leur aptitude à produire du tissu embryogène, leur régénération en milieu de sélection et leur efficacité globale de transformation. Parmi ce matériel, huit génotypes ont présenté des résultats satisfaisants (Pellegrineschi et al., 2002).

D'autre part, les résultats des embryons induits, sur le milieu MS Asp, montrent que le pourcentage d'induction du tissu embryogène est de 83, 87 et 94% respectivement pour Karim, Tilila et Marzak (Figure 3, 4, 5). Ce pourcentage est calculé 4-5 jours après le bombardement. Il représente le pourcentage d'embryons induits après transformation génétique par rapport au nombre total d'embryons. La sélection sur des milieux sélectifs montre qu'en présence de 1 mg/L du Basta, le pourcentage de survie est de 37, 25 et 8% respectivement pour Tilila, Marzak et Karim (Tableau 1). Ces pourcentages sont respectivement de 9, 4 et 0% sur un milieu contenant 3 mg/L de Basta (Tableau 1). L'absence de survie notée chez la variété Karim est probablement due à la transformation transitoire des embryons par le plasmide PCGP. Les plants transformés des variétés Tilila et Marzak sont saines et montrent une apparence normale (Figure 6).

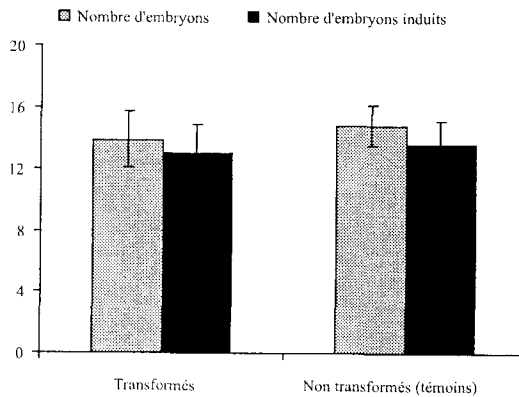


Figure 3. Nombre d'embryons induits, de la variété Tilila, après transformation génétique. Les observations ont été réalisées 4-5 jours après le bombardement.

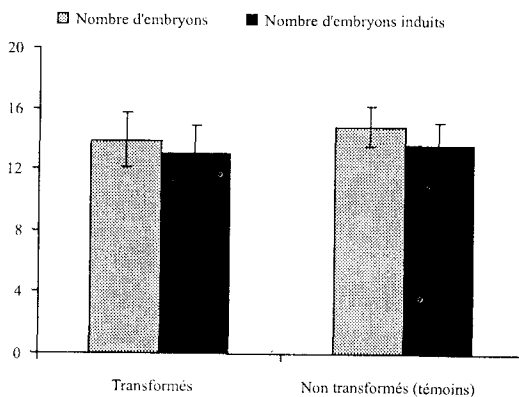


Figure 4. Nombre d'embryons induits, de la variété Marzak, après transformation génétique. Les observations ont été réalisées 4-5 jours après le bombardement.

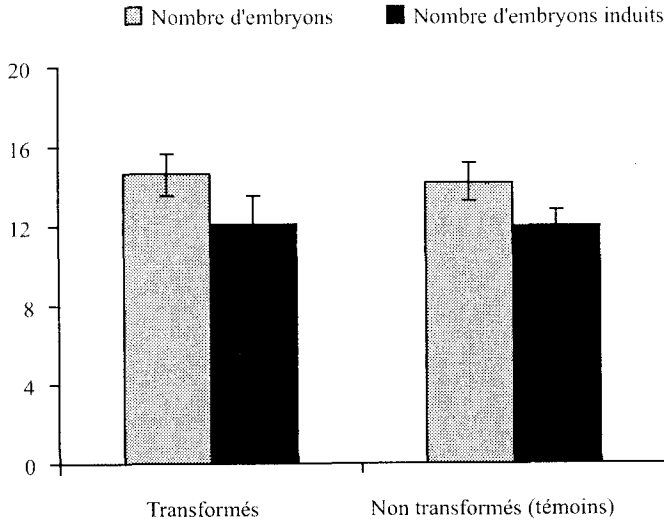


Figure 5. Nombre d'embryons induits, de la variété Karim, après transformation génétique. Les observations ont été réalisées 4-5 jours après le bombardement.

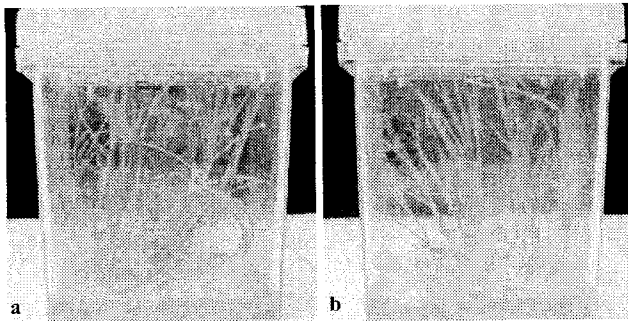


Figure 6. Régénération des plants de blé transformés.
 a : Blé tendre, variété Tilila
 b : Blé dur, variété Marzak

Tableau 1. Pourcentage de survie après application de pression de sélection par différentes concentrations du Basta dans le milieu.

Variété	Concentration en Basta	
	1 mg/L	3 mg/L
Tilila	36,78%	8,81%
Marzak	25,12%	3,86%
Karim	7,73%	0,00%

Remerciements

Nous tenons à remercier l'ICARDA pour l'octroi du plasmide PCGP ainsi que pour leur soutien financier. Nos remerciements s'adressent également à Mr Abbad Andaloussi Fouâd, Chef du Département Protection des Plantes pour ses remarques et commentaires judicieux.

Références bibliographiques

- Bahieldin A., Mahfouz H.T., Eissa H.F., Saleh O.M., Ramadan A.M., Ahmed I.A., Dyer W.E., El-Itriby H.A., Madkour M.A. (2005). Field evaluation of transgenic wheat plants stably expressing the HVA1 gene for drought tolerance. *Physiologia Plantarum* 123: 421-427
- Campbell B.T., Baenziger P.S., Mitra A., Sato S., Clemente T. (2000). Inheritance of multiple transgenes in wheat. *Crop Science* 40: 1133-1141
- Caruso A., Morabito D., Depierreux C., Cheddor F., Delmotte F., Kahlem G., Carpin S. (2002). Caractérisation et fonction des déhydrines chez les plantes. *Regard sur la Biochimie* 4: 19-22
- Dunwell J.M. (2000). Transgenic approaches to crop improvement. *Journal of Experimental Botany* 51: 487-496
- Duval E., Bezaed A. (2003). La filière céréales au Maroc. Fiche de synthèse. Missions économique. 2: 1-3
- FAO (2003), Production et utilisation des céréales au Maroc. <http://www.fao.org/inpho/bray/move rep/x0289 f/x0289folhtm>
- Ingram J., Bartels D. (1996). The molecular basis of dehydration tolerance in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 47: 377-403
- Iraqi D., Tremblay F.M. (2001a). The role of sucrose on maturation of black spruce [*Picea mariana* (Mill) BSP] and white spruce [*Picea glauca* (Moench) Voss] somatic embryos. *Physiologia Plantarum* 111: 381-388
- Iraqi D., Tremblay F.M. (2001b). Analysis of carbohydrate metabolism enzymes and cellular levels of sugars and proteins during spruce somatic embryogenesis suggests a regulatory role of exogenous sucrose in embryo development. *Journal of Experimental Botany* 52: 2301-2311
- Iraqi D., Le V.Q., Lamhamedi S.M., Tremblay F.M. (2004). Sucrose utilization during somatic embryo development in black spruce: Involvement of apoplastic invertase in the tissue and of extracellular invertase in the medium. *Journal of Plant Physiology* 162, 115-124
- Karrou M. (2003). Conduite du blé au Maroc. INRA Editions 2003. PP 57
- Kilili K.G., Atanassova N., Vardanyan A., Clatôt N., Al-Sabarna K. (2004). Differential roles of tau class Glutathione S-Transferase in oxidative stress. *The Journal of Biological Chemistry* 279: 24540-24551
- Koch K., Nolte K., Duke E., McCarty D., Avigne W. (1992). Sugar levels modulate differential expression of maize sucrose synthase genes. *Plant Cell* 4: 59-69

- Koch K. (1996). Carbohydrate-modulated gene expression in plants. *Annual Reviews in Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 47, 509-540
- Koch K. (2004). Sucrose metabolism: regulatory mechanisms and pivotal roles in sugar sensing and plant development. *Current Opinion in Plant Biology* 7, 235-246
- MADRPM (1999). Programme de sécurisation de la production céréalière, 1999-2002 (Rapport). Ministère de l'agriculture, du développement rural et des pêches maritimes, Rabat, Maroc
- McGonigle B., Keeler S.J., Lau S.C., Mary K., Koeppel M.K., O'Keefe D.P. (2000). A genomics approach to the comprehensive analysis of the Glutathione S-Transferase gene family in soybean and maize. *Plant Physiology* 124: 1105-1120
- Murashigie T., Skoog F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15 : 473-497
- Patnaik D., Khurana P. (2001). Wheat biotechnology: A minireview. *Electronic Journal of Biotechnology* 4: 74-102
- Patnaik D., Khurana P. (2003). Genetic transformation of Indian bread (*T. Aestivum*) and pasta (*T. Durum*) wheat by particle bombardment of mature embryo-derived calli. *Biomed central Plant Biology* 3:1-11
- Pauk J., Ertugrul F., Bartok T., Mihaly R., Kiss O., Cseuz L., Dudits D. (2002). Improvement of wheat abiotic stress resistance via genetic transformation. *Proceedings of the 7th Hungarian congress on Plant Physiology* 46: 5-7
- Pellegrineschi A., Noguera L.M., Skovmand B., Brito R.M., Velazquez L., Salgado M.M., Hernandez R., Warburton M., Hoisington D. (2002). Identification of highly transformable wheat genotypes for mass production of fertile transgenic plants. *Genome* 45: 421-430
- Pellegrineschi A., Reynolds M., Pacheco M., Brito R.M., Almeraya R., Yamaguchi S.K., Hoisington D. (2004). Stress-induced expression in wheat of the *Arabidopsis thaliana* DREB1A gene delays water stress symptoms under greenhouse conditions. *Genome* 49: 493-500
- Roitsch T., Gonzalez M.C. (2004). Function and regulation of plant invertases: sweet sensations. *Trends in Plant Science* 9, 606-613
- Roxas V.P., Roger K., Smith J.R., Allen E.R., Allen R.D. (1997). Overexpression of glutathione S-transferase/glutathioneperoxidase enhances the growth of transgenic tobacco seedlings during stress. *Nature Biotechnology* 15, 988 - 991
- Sivamani E., Bahieldin A., Wraith J.M., Al-Niemi T., Dyer W.E., Ho T.D., Qu R. (2000). Improved biomass productivity and water use efficiency under water deficit conditions in transgenic wheat constitutively expressing the barley HVA1 gene. *Plant Science* 155: 1-9
- Sturm A. (1999). Invertases primary structures, functions, and roles in plant development and sucrose partitioning. *Plant Physiology* 121: 1-7
- Xu F., Lagudah E.S., Moose S.P., Riechers D.E. (2002). Tandemly duplicated safener-induced Glutathione S-Transferase genes from *Triticum tauschii* contribute to genome- and organ-specific expression in hexaploid wheat. *Plant Physiology* 130: 362-373