

ANALYSE COMPARATIVE DE LA TOLÉRANCE À LA SALINITÉ DU GAMÉTOPHYTE MÂLE ET DU SPOROPHYTE CHEZ *MEDICAGO* AU STADE GERMINATION

Adel Amar AMOURI* & Fatima-Zohra FYAD LAMECHE

Laboratoire de Génétique et d'Amélioration des plantes. Département de Biologie, Faculté des Sciences, BP1524. Université d'Oran-Es-Sénia, Oran, Algérie.

*Auteur pour correspondance: amouri.adel@univ-oran.dz

Recibido el 16 de septiembre de 2011, aceptado para su publicación el 29 de octubre de 2011

RÉSUMÉ. *Analyse comparative de la tolérance à la salinité du gamétophyte mâle et du sporophyte chez Medicago au stade germination.* De nombreuses études ont montré une corrélation positive entre les réponses du pollen et de celles du sporophyte à un ensemble de stress. Une étude comparative de la tolérance à la salinité du gamétophyte mâle et du sporophyte au stade germination, a été effectuée sur six écotypes d'espèces annuelles du genre *Medicago*. A été mesuré, au stade sporophytique, le taux de germination des graines, au stade gamétophytique, le taux de germination du pollen après application d'un stress salin à différentes concentrations de NaCl (0 ; 68 ; 102 et 137 mM). L'analyse des données relatives au sporophyte et au gamétophyte montre que les six écotypes diffèrent significativement entre eux en absence et en présence de stress pour le taux de germination. Le génotype Tru 42 de l'espèce *M. truncatula* a montré une meilleure capacité germinative, apparaît comme le plus tolérant et le génotype Pol 248 de *M. polymorpha* le moins tolérant. Ces résultats montrent qu'une correspondance entre l'aptitude du sporophyte et celui du gamétophyte pour la tolérance à la salinité, existe chez *Medicago*, ce qui permet d'envisager la possibilité d'appliquer la sélection au stade gamétophytique, une technique rapide et économique.

Mots clés. *Medicago*, stress salin, germination, graines, pollen, sélection gamétophytique.

ABSTRACT. *Comparative analysis of salinity tolerance of the male gametophyte and the sporophyte in Medicago at the germination stage.* Many studies have shown a positive correlation between the responses of pollen and those of the sporophyte to a set of stress. A comparative study of the salinity tolerance of the male gametophyte and the sporophyte has been undertaken on six ecotypes of annual species of *Medicago*. The seed germination rate at sporophytic stage and the pollen germination rate at gametophytic stage have been assessed after stress exposition under different salt concentration of NaCl (0; 68; 102 and 137 mM). The sporophyte and the gametophyte data analysis showed that the six ecotypes differed significantly between themselves with or without stress application for the germination rate. The Tru 42 genotype of *M. truncatula* showed the best germinatif ability, appeared as the most tolerant and the genotype Pol 248 of *M. polymorpha* the least tolerant. This result showed the existence of a correspondence between sporophytic and gametophytic aptitude for salt tolerance in *Medicago*, this allows the possibility to apply gametophytic selection, fast and economical technique.

Key words. *Medicago*, salt stress, germination, seeds, pollen, gametophytic selection.

INTRODUCTION

Les espèces annuelles du genre *Medicago* jouent un rôle important dans l'amélioration de la production fourragère en *Algérie*. Elles permettent le maintien de la fertilité du sol grâce à leur capacité fixatrice d'azote atmosphérique. Les fortes teneurs en sels de l'eau du sol diminuent considérablement le potentiel hydrique de cette solution et imposent des conditions de stress hydrique aux végétaux (Laval Martin et Mazliak, 1995).

Un grand nombre de travaux ont montré une corrélation positive entre les réponses du pollen et celles du sporophyte à un ensemble de stress (Evans *et al.* 1990). Cela laisse supposer que la sélection gamétophytique qui est plus efficace et plus économique par rapport à la sélection durant la phase diploïde, peut être appliquée chez les plantes économiquement importantes (Shivanna et Sawhney, 1993). Beaucoup d'expériences basées sur le concept d'overlapping qui est le chevauchement dans l'expression des gènes entre les deux stades, se multiplient pour divers objectifs en amélioration des plantes ; résistance à des toxines, à la sécheresse et la gestion efficace de la variabilité génétique (Sarr *et al.* 1992).

Ce travail original a pour objectif de montrer si la variabilité génétique entre génotypes pour le taux de germination au niveau sporophytique est repérée au niveau gamétophytique. La recherche d'une correspondance de comportement vis-à-vis de ce stress abiotique, permet de cribler préalablement des génotypes tolérants en vue de leur utilisation dans les zones salines, arides et semi-arides et de déterminer si la sélection gamétophytique peut servir pour sélectionner des génotypes tolérants chez *Medicago*. Pour cela, a été mesuré, au stade sporophytique, le taux de germination des graines, au stade gamétophytique, le taux de germination du pollen sous différentes concentrations de salinité, car à ce stade, la germination devient

un facteur déterminant pour le développement de la plante sous l'action de la salinité. Ainsi, toutes les graines n'ont pas une capacité identique de tolérer la dessiccation. Les graines dites récalcitrantes des climats chauds et humides ne survivent pas à une teneur en eau inférieure à 60 % alors que les graines dites orthodoxes (80 % des espèces cultivées) résistent aux faibles teneurs en eau et aux basses températures (Gimeno Gilles, 2009).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Matériel végétal. Le matériel végétal utilisé pour l'étude biométrique pour les deux phases sporophytique et gamétophytique est constitué de six écotypes d'espèces annuelles de *Medicago* (*M.truncatula*, *M.polymorpha* et *M.ciliaris*), fournis par l'Ecole National Supérieure Agronomique d'El-Harrach (E.N.S.A) à *Alger, Algérie*.

Méthodes. Par semis, pour chaque écotype, quarante graines scarifiées après désinfection sont réparties en quatre lots, le lot témoin et les trois lots traités à différentes concentrations de NaCl, 68, 102 et 137 mM (correspondant respectivement aux traitements T1, T2 et T3), sont mises à germer à l'obscurité en boîte de Petri fermées et tapissées avec du papier filtre imbibé avec le milieu correspondant, dans une étuve à une température de 25 ± 2 °C et une humidité relative de 80%. Chez *Medicago*, la condition optimale est l'obscurité et la lumière diminue la vitesse de germination (Gimeno Gilles, 2009). Les graines germées sont dénombrées quotidiennement afin d'analyser la cinétique de germination, l'émergence de la racine étant l'indicateur de la germination. Les boîtes de pétri ont été arrosées tous les deux jours (3 ml par boîte de solution des différentes concentrations de NaCl) pour maintenir les graines toujours imbibées. Neuf jours après le semis et à une température de 25 ± 2 °C, le

Essais	Nombre de répétition	Nature du traitement (concentration de NaCl en milimolaire mM)	Durée du traitement jrs: jours mn: minutes	Paramètre étudié
Cinétique de germination des graines	5 fois	0 mM (T0)	9 jrs	TGG
		68 mM (T1)	9 jrs	TGG
		102 mM (T2)	9 jrs	TGG
		137 mM (T3)	9 jrs	TGG
Germination du pollen	3 fois	0 mM (T0)	30 min	TGP
		68 mM (T1)	30 min	TGP
		102 mM (T2)	30 min	TGP
		137 mM (T3)	30 min	TGP

Tableau 1. Résumé des Essais: stade étudié, nature et durée du traitement et mesures. TGG: taux de germination des graines. TGP: taux de germination du pollen. *Essays summary: studied stage, nature and duration of treatment and measures. TGG: mean rate of seeds germination. TGP: mean rate of pollen grains germination.*

taux de germination (TGG) est calculé afin d'analyser la capacité germinative, car après cette durée, un taux élevé de graines germées est observé aux différentes doses de salinité. Ces taux représentent le pourcentage de graines germées par rapport au total de graines semées et qui varie d'un génotype à un autre (tab. 1). Le dispositif expérimental utilisé au stade sporophytique, est un dispositif bloc, échelonné dans le temps, complètement aléatoire, avec cinq répétitions. Dans chaque répétition, chaque écotype est représenté par dix individus.

Pour l'analyse du pollen, le prélèvement des grains de pollen s'effectue sur des fleurs à un stade bien déterminé, correspondant à une corolle bien ouverte (Fyad Lamèche *et al.*, 2007). La germination du pollen s'effectue sur quatre lames de microscope, contenant quatre milieux différant par leur concentration en NaCl, les mêmes concentrations celles utilisées au niveau sporophytique, puis mises à incuber dans une étuve à 25 ± 2 °C pendant une demi heure (30 mn). Les observations se font au microscope optique, objectif x10. Le milieu de culture utilisé, est composé de 100 ppm d'acide borique, 100 ppm de carbonate de potassium, 300 ppm de nitrate de calcium et 10 % de saccharose dans de l'eau distillée à pH= 6.8 (de Vienne, 1979). Le dispositif

expérimental utilisé au stade gamétophytique, est un dispositif bloc, échelonné dans le temps, complètement aléatoire, avec trois répétitions. Dans chaque répétition, chaque écotype est représenté par cinq plantes. Le taux de germination du pollen (TGP) est calculé après une demi-heure (30 mn) de mise en culture dans les différents milieux (tab. 1). Afin de déterminer la tolérance d'un génotype à la salinité, un indice de tolérance I.T a été calculé pour les deux stades de germination et qui est égal au rapport entre le taux moyen de germination notée sous stress sur la valeur moyenne du témoin.

Analyse des données. Afin de mettre en évidence un effet traitement global, un test d'analyse de variance à trois facteurs (bloc, génotype et traitement) a été réalisé sur les données pour les caractères TGG et TGP. Les données relatives pour chaque traitement, ainsi celles du témoin, ont été analysées indépendamment par un test d'analyse de variance à deux facteurs (bloc, génotype) où le facteur génotype est considéré comme fixe. Après le test d'analyse de variance, l'effet génotype s'est révélé significatif et des comparaisons multiples de moyennes ont été effectuées par le test de Newman et-Keuls

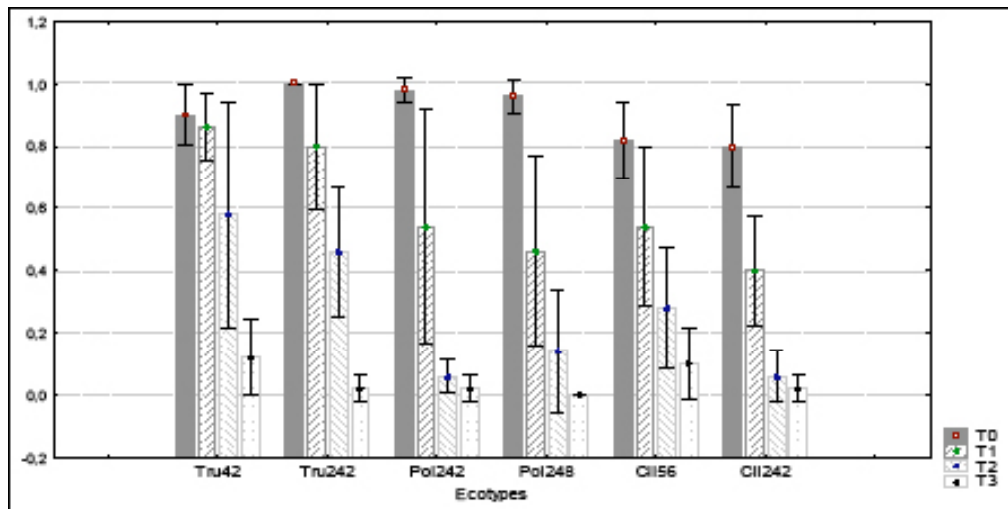


Figure 1. Taux moyen de germination des graines par écotype et par traitement (Les barres des histogrammes représentent les écarts types Ec-type). Mean rate of seeds germination by ecotype and treatment (Bars on histograms represent standard deviations SD)

(Dagnélie, 1975). Les différentes valeurs de F des deux analyses et par traitement ont été comparées afin de discriminer entre les différents génotypes par les différents traitements et de déterminer par la suite, à quel traitement correspond la valeur statistique la plus élevée de F (Fyad Lamèche *et al.*, 2007), ce qui permettra de le retenir comme étant le meilleur afin de cribler pour la tolérance au stress salin. Tous les tests statistiques ont été réalisés avec le logiciel *Statistica* version 6.1.

RÉSULTATS

Étude de la variabilité de la tolérance au stress salin chez le sporophyte. Le stress salin, quelle que soit la concentration en NaCl, diminue le taux de germination des graines. Le test de l'effet traitement global, par une analyse de variance à trois facteurs, s'est révélé hautement significatif (tab. 2). Les taux de germination en absence de stress sont compris entre 80 et 100 %. Les valeurs des

indices de tolérance calculés par génotype et par traitement indiquent qu'après une durée de traitement de neuf jours les taux de germination des graines diminuent considérablement au fur et à mesure que la concentration en sel augmente (fig. 1). L'écotype Tru 42 présente le taux de germination le plus élevé quel que soit le traitement avec un fort indice de tolérance, il représente un taux de réduction de 95 à 13.3 % de celui du témoin et chez l'écotype Pol 248, le plus faible taux de réduction de 47 à 0 %. Les taux de germination enregistrés sur l'ensemble des cinq répétitions de l'expérience montre que l'écotype Tru 42 est le plus vigoureux aux différents traitements et qui tolère le mieux au stress salin, tandis que l'écotype Pol 248, la moins vigoureux, tolère le moins l'effet de ce stress (fig. 1). A la lecture du tableau (2) sur l'analyse de variance qui est réalisée indépendamment par traitement, montre un effet génotype hautement significatif ($P < 0.01$) pour les témoins et le traitement T2, ce dernier présente la valeur de F la plus élevée, ce qui montre que ce traitement discrimine le

Traitement	Taux de germination des graines				Traitement	Taux de germination du Pollen			
	ddl	Carré moyen	F	P		ddl	Carré moyen	F	P
T0	5	0.035	4.13	0.007 **	T0	5	0.078	3.29	0.021 *
T1	5	0.174	2.45	0,063 ns	T1	5	0.089	2.90	0.034 *
T2	5	0.237	4.88	0.003 **	T2	5	0.071	3.45	0.017 *
T3	5	0.013	1.97	0.118 ns	T3	5	0.034	2.33	0.073 ns
Traitement global	3	4.31	141.48	0.000 **	Traitement global	3	1.15	51.25	0.000 **

Tableau 2. Résultats des tests d'analyse de la variance de l'effet écotype par traitement pour le taux de germination. Niveau de signification: * = $P < 0.05$, ** = $P < 0.01$, ns : non significatif. *Results of analysis of variance tests for ecotype effect by treatment for germination. Level of significance: * = $P < 0.05$, ** = $P < 0.01$, ns: no significant*

mieux entre les génotypes. Rappelons le que ce traitement correspond à une concentration de 102 mM de NaCl.

Cinétique de germination. Les résultats de la figure 2 montrent que les courbes relatives aux taux de germination des graines sous stress salin, sont situées au-dessous de celles du témoin et diminuent au fur et à mesure que la concentration de NaCl augmente. Cette figure révèle aussi un ralentissement du processus de germination en fonction du stress salin. La germination des graines est précédée par un temps de latence qui augmente avec la dose de salinité. Cette latence est de 1 à 3 jours selon l'écotype de chaque espèce. La cinétique de germination est régulée par la température, l'optimum varie d'une espèce à l'autre selon le milieu auquel elle est adaptée (Gimeno Gilles, 2009). En conditions témoins, les écotypes Tru 242 et Tru 42, présentent une vitesse et capacité de germination élevée par rapport à l'écotype Pol 248, cette vitesse se stabilise à partir du quatrième jour (J4). Sous stress salin, les résultats de l'essai montrent que les concentrations 68, 102 et 137 mM de NaCl réduisent la vitesse et la capacité germinative

des graines. Toutefois, le génotype Tru 42, s'avère le plus tolérant, avec une vitesse et capacité de germination la plus élevée par rapport aux autres génotypes. Ainsi, la cinétique de germination à la concentration de 102 mM montre une variabilité élevée entre les génotypes de chaque espèce, cette variabilité génotypique qui porte sur la vitesse de germination, est en fonction de la température et la réponse au déficit hydrique (Brunel Muguet, 2008).

Étude de la variabilité de la tolérance au stress salin chez le gamétophyte mâle. Les taux de germination du pollen en absence de le traitement est compris entre 40 et 70 % (fig. 3). L'application du stress salin réduit le taux de germination du pollen chez tous les écotypes par rapport au témoin, au fur et à mesure que celui-ci augmente. Cette diminution est variable selon l'écotype et le traitement (fig. 3). Le génotype Tru 42 présente l'indice de tolérance le plus élevé pour les trois traitements, qui est compris entre 0.42 et 0.85, alors que le génotype Pol 248 enregistre l'indice le plus faible quel que soit le traitement et qui est compris entre 0.02 et 0.25, valeurs proches de celui du génotype Pol 242.

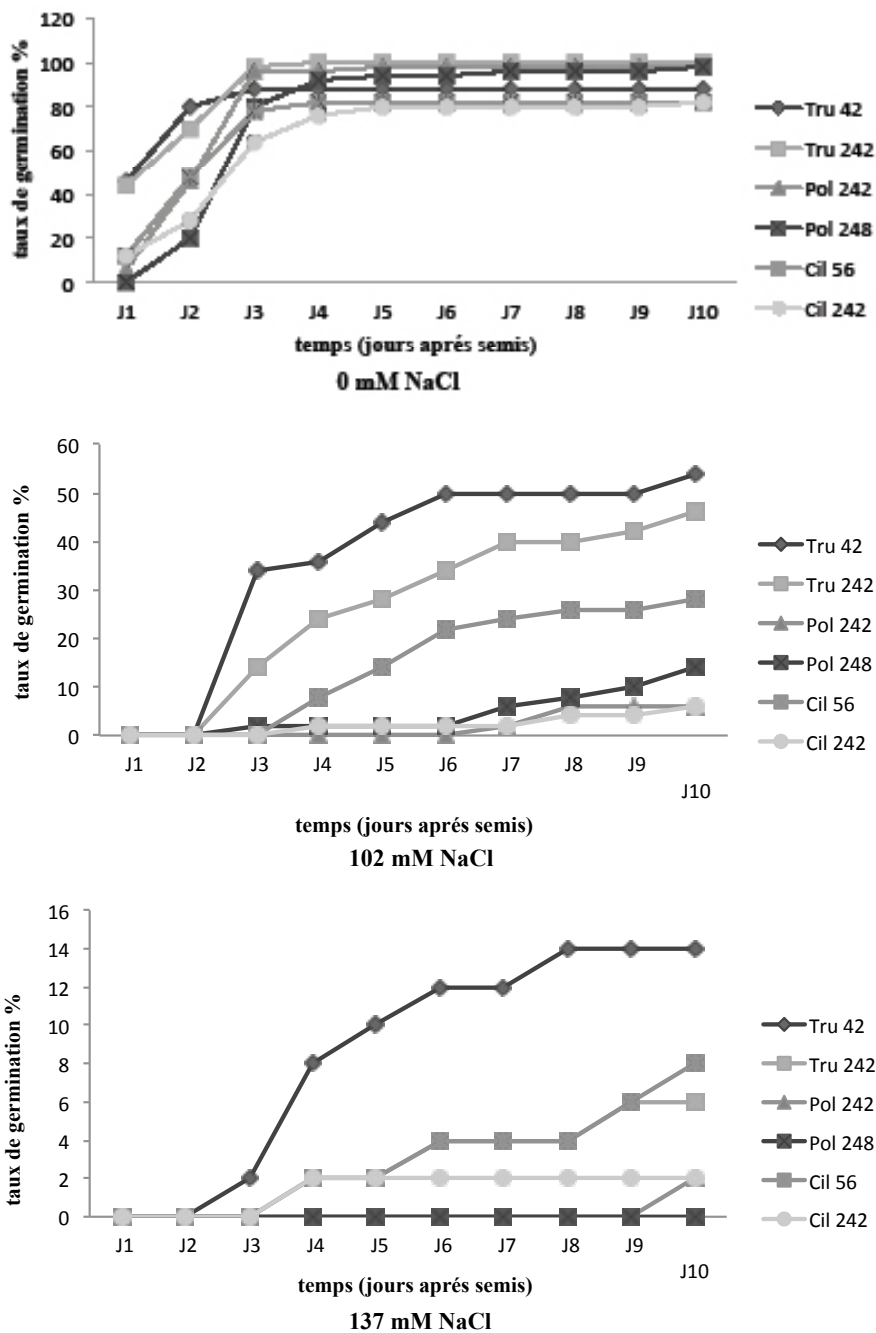


Figure 2. Cinétique de germination des graines de *Medicago* en fonction de la concentration de NaCl. *Kinetics of seeds germination of Medicago according to NaCl concentration.*

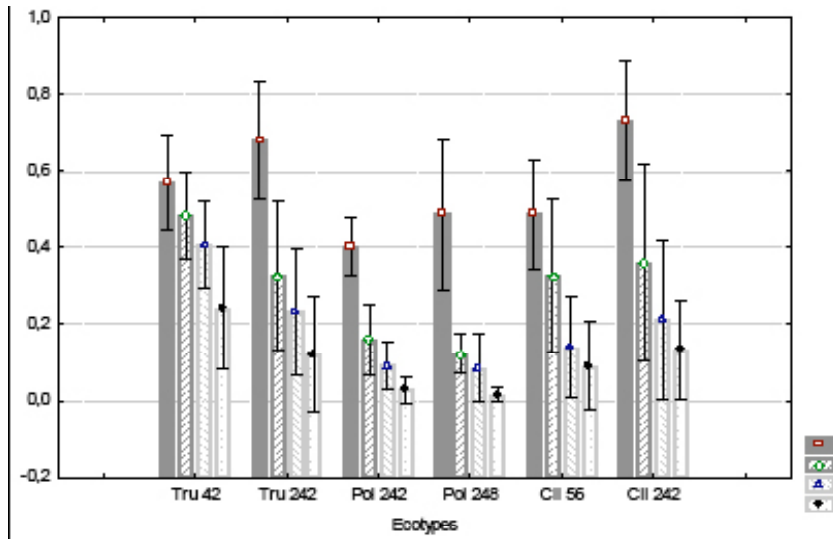


Figure 3. Taux moyen de germination des grains de pollen par écotype et par traitement (Les barres des histogrammes représentent les écarts types Ec-type). *Mean rate of pollen germination by ecotype and treatment (Bars on histograms represent standard deviations SD)*

L'analyse de variance du taux de germination du pollen montre un effet génotype hautement significatif ($P < 0.05$) pour les témoins et les deux traitements T1 et T2. On note que le traitement T2 présente la valeur statistique de F la plus élevée, ce qui suggère que la concentration de NaCl de 102 mM discrimine le mieux entre les différents génotypes (tab. 2). Ce résultat correspond à celui trouvé au stade sporophytique.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Chez le sporophyte, les résultats des tests d'analyse de la variance sur le taux de germination des graines montrent que l'effet génotype est hautement significatif sous les conditions du témoin et seulement sous le traitement T2, ce dernier enregistre la valeur de F la plus élevée ; ce traitement pourra être utilisé pour mieux discriminer entre les génotypes tolérants et sensibles pour ce caractère. Le génotype qui manifeste le plus de tolérance est

Tru 42. Ainsi, toutes les graines n'ont pas une capacité identique de tolérer la dessiccation due à la salinité (Gimeno Gilles, 2009). On note qu'à ce stade les génotypes qui expriment moins de tolérance sont Pol 242, Pol 248 de l'espèce *M. polymorpha* et Cil 242 de l'espèce *M. ciliaris*. Selon Prado *et al.* (2000), la diminution du taux de germination des graines soumises à un stress salin serait due à un processus de dormance osmotique développé sous ces conditions de stress. L'étude de la cinétique de germination montre que la salinité retarde la germination et ralentit sa vitesse. D'après Ben Miled *et al.* (1986), ce retard correspondrait au temps nécessaire à la graine pour mettre en place des mécanismes lui permettant d'ajuster sa pression osmotique interne. La variation des capacités germinatives des graines permettent de bien discriminer les génotypes quant à leur tolérance ou sensibilité au sel au cours de la germination. Ainsi, le génotype Tru 42, présente la meilleure aptitude à la germination en conditions salines et est donc considéré comme le plus tolérant à ce stade. De ce fait, il

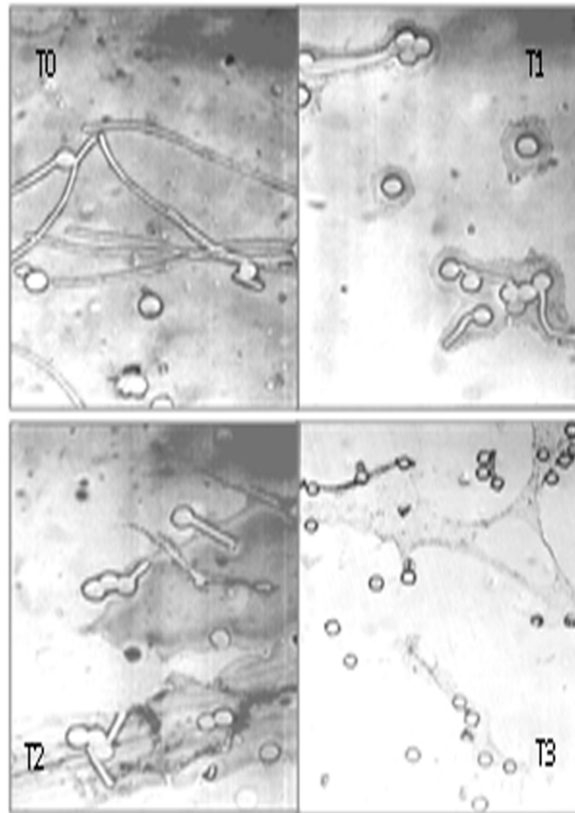


Figure 4. Exemple de germination du pollen sous stress salin chez l'écotype Cil 56. *Example of pollen germination under salt stress in the ecotype Cil 56.*

est possible de rechercher les bases génétiques qui expliquent ce polymorphisme de réponse au stress salin au cours de la germination.

Chez le gamétophyte mâle, l'étude de la réponse au stress salin pour la germination des grains de pollen à différentes concentrations de salinité, se traduit par un faible taux de germination des grains de pollen, ainsi que celles des indices de tolérance chez les différents écotypes. L'écotype Tru 42, présente un pouvoir germinatif élevé, alors que Pol 248 présente une très faible germination quel que soit le traitement appliqué. L'analyse de la variance montre que l'effet lié à la salinité a provoqué une variation significative et

importante entre les génotypes au traitement T2. Ce résultat est comparable que celui trouvé au stade sporophytique. Ainsi à cette concentration en sel de 102 mM, nous avons pu déterminer quel est le génotype le plus tolérant. Quelques travaux ont mis en évidence des corrélations négatives entre les stress abiotiques et la germination des grains de pollen ; on cite parmi eux ceux de Lambert *et al.* (1986), qui ont prouvé que la température a un effet important sur la viabilité du pollen du *Maïs* et que le stress hydrique n'a qu'un effet limité et que l'effet de la température dépend étroitement de la variété considérée.

La comparaison entre le stade sporophytique

et gamétophytique, révèle que le stress salin affecte ces deux stades et les effets de ce stress abiotique sont d'autant plus importants que la concentration en sel augmente. L'analyse des résultats obtenus à partir des comparaisons de l'aptitude à la germination chez les différents écotypes entre le stade diploïde et le stade haploïde, montre une forte correspondance de tolérance au stress salin pour l'écotype Tru 42. À partir de ces résultats, on peut dire qu'il y a un overlapping fonctionnel chez cet écotype pour la tolérance à la salinité. L'overlapping fonctionnel, est un concept qui suppose l'existence de l'overlapping structural, qui établit une corrélation entre l'aptitude germinative des gamétophytes et celles des sporophytes à tolérer le stress. L'overlapping structural est le chevauchement dans l'expression des gènes entre le stade haploïde et diploïde (Sarr *et al.* 1992). Les plantes ont développé des mécanismes complexes pour affronter les changements environnementaux. Au niveau moléculaire, ceci est illustré par de nombreux changements dans le transcriptome observés chez les jeunes plantules, les feuilles, les racines et le pollen, et ceci comme un processus cellulaire reprogrammant les plantes à s'adapter aux différentes températures, basses ou élevées (Kreps *et al.* 2002). Chez *Arabidopsis*, il a été démontré que les changements dans les profils protéiques sont associés au processus du développement du pollen et la réponse au stress. En plus, l'étude protéomique du pollen a montré un chevauchement considérable dans la présence des protéines simultanément dans le pollen mature et les graines du sporophyte. Notamment, les deux protéomes contiennent des niveaux élevés en protéines LEA et en chaperons, qui ont un rôle important dans la tolérance au stress en relation avec la dormance des graines et des grains de pollen (Grobei *et al.* 2009). D'ailleurs un grand nombre de travaux ont montré une corrélation positive entre les réponses du pollen et celles du sporophyte à un ensemble de stress (Hormaza et Herrero, 1996;

Evans *et al.* 1990). Des résultats identiques chez les plantes légumineuses et solanées, révèlent que les réactions du pollen aux différents stress biotiques et abiotiques sont parallèles aux réactions des plantes ; Par exemple pour le froid, les géotypes les plus tolérants au niveau sporophytique sont également les plus tolérants au niveau gamétophytique chez la tomate (Zamir *et al.* 1981) et chez le Maïs (Landi *et al.* 1989). Ces résultats qui sont en accord avec ces divers travaux, permettent d'affirmer que les variations observées sur la capacité germinative vis-à-vis du stress salin au niveau sporophytique sont détectées au niveau gamétophytique chez le géotype Tru 42 de *M. truncatula*, qui est l'espèce modèle chez les légumineuses. Cette similitude qui se manifeste entre les deux stades pour la tolérance à la salinité, permettra ultérieurement de sélectionner les pollens les plus aptes à germer afin de les utiliser pour féconder des écotypes sensibles comme Pol 248, donnant ainsi une descendance d'individus d'une population hybride tolérante au stress salin.

Ce modeste travail concernant la tolérance à la salinité chez les espèces annuelles du genre *Medicago*, a permis de cribler préalablement le géotype le plus tolérant au stress salin parmi un ensemble de géotypes des différentes espèces et ceci en comparant l'aptitude germinative, entre le stade gamétophytique et sporophytique. L'existence d'une correspondance entre la capacité des gamétophytes et celles des sporophytes de tolérer la salinité, suppose l'existence d'un chevauchement dans l'expression génétique de cette aptitude germinative pour la tolérance à ce stress abiotique chez le géotype jugé tolérant de l'espèce *M. truncatula*. Cette étude constitue une preuve que la sélection au stade gamétophytique, technique de sélection, efficace, rapide et économique, peut s'appliquer à la sélection de géotypes tolérants au stress abiotiques en vue de leur introduction dans les zones arides et semi arides.

REMERCIEMENTS. Ma grande gratitude au Professeur A. Abdelguerfi de l'École Nationale Supérieure Agronomique d'Alger pour l'apport du matériel végétal nécessaire pour cette étude.

BIBLIOGRAPHIE

- BEN MILED, D., M. BOUSSAID., A. ABDELKEFI & A. CHERIF -1986- Tolérance au sel d'espèces annuelles du genre *Medicago* au cours de la germination. Séminaire international sur les végétaux en milieu aride, 8 au 10 septembre, Jerba., Tunisie.
- BRUNEL MUGUET, S. -2008- *Caractérisation écophysiological de différents génotypes de Medicago truncatula au cours des phases de germination et de croissance hétérotrophe*. Thèse de doctorat en Sciences agronomiques. Université d'Angers (France), 105 p.
- DAGNÉLIE, P. -1975- *Théories et méthodes statistiques, II*. Presse agronomiques de Gembloux, 463p.
- EVANS, D.E., M.B. SINGH & R.B. KNOX -1990- Pollen development: applications in biotechnology. In Blackmore S., Knox R.B. (eds). *Microspores: evolution and ontogeny*, Academic Press. London San Diego: 309-338.
- FYAD LAMECHE, F.Z. -2007- Tolérance au froid chez la tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Etude comparée du développement du gamétophyte mâle et du sporophyte. *Acta Bot. Gallica* 154(2): 251-263.
- GIMENO GILLES, C. -2009- *Étude cellulaire et moléculaire de la germination chez Medicago truncatula*. Thèse de doctorat en Biologie Cellulaire et Moléculaire Végétale. Université d'Angers (France), 174 p.
- GROBEI, M.A, E. QELI., E. BRUNNER., H. REHRAUER., R. ZHANG., B. ROSCHITZKI., K. BASLER., C.H AHRENS & U. GROSSNIKLAUS -2009- Deterministic protein inference for shotgun proteomics data provides new insights into Arabidopsis pollen development and function. *Genome Research* 19:1786-1800.
- HORMAZA, J.I. & M. HERRERO -1996- Male gametophytic selection as a plant breeding tool. *Scientia horticulturae* 65: 321-333.
- KREPS, J.A, Y.J. WU., H.S. CHANG., T. ZHU., X. WANG & J.F. HARPER -2002- Transcriptome changes for Arabidopsis in response to salt, osmotic, and cold stress. *Plant Physiology* 130: 2129-2141
- LAMBERT, P.J., J.B. SCHOPER & B.L. VAISLAS -1986- Maize pollen viability and ear receptivity under water and high temperature stress. *Crop Science* 26: 1029-1033.
- LANDI, P., E. FRASCAROLI & R. TUBEROSA - 1989- Conti S. Comparison between responses to gametophytic and sporophytic recurrent selection in maize (*Zea mays L*). *Theoretical and Applied Genetics* 77: 761-767.
- LAVAL MARTIN, D. & P. MAZLIAK -1995- Physiologie végétale. In Hermann (eds). *Nutrition et Métabolisme* 1: 510-526.
- PRADO, F.E., C. BOERO., M. GALLARDO & J.A. GONZALEZ -2000- Effect of NaCl on germination, growth and soluble sugar content in *Chenopodium quinoa* Willd. Seeds. *Botanical Bulletin of Academia Sinica* 41: 27-34.
- SARR, A, T. ROBERT, S. PILATE ANDRÉ, F. LAMY, M. SANDMEIER, M.T. PEIGNE, M. HEUGAS, A. RICROCH, N. KHALFALLAH, S. YAKOVLEV, M. CHERKAOUI, L. BENDAOU, L. TAZI, R. LESPINASSE & K. LE THI -1992- Domestication of millet (*Pennisetum typhoides* Stapf and Hubb). A model for studying evolution of species complexes (gene flow, gametophytic selection). Plant species complexes, gene flow and genetic resources. Proceedings of the international colloquium, Paris (France), January 8-10, as homage to Jean Pernes, professor at University Paris-11. In BRG (Eds), Bureau des Ressources Génétiques, Paris, France: 19-35.
- SHIVANNA, K.R. & V.K. SAWHNEY -1993- Pollen selection for *Alternaria* resistance in oilseed brassicas: responses of pollen grains and leaves to a toxin of *A.brassicacae*. *Theoretical and Applied Genetics* 86: 339-344.
- VIENNE, DE, D. -1979- Variabilité chez une espèce tétraploïde: analyse iso-enzymatique et biométrique du pollen de quelques familles apparentées de luzerne. *Ann. Amélior. Plantes* 28 (3): 289-307.
- ZAMIR, D., S.D. TANKSLEY & R. JONES -1981- Low temperature effect on selective fertilization by pollen mixtures of wild and cultivated tomato species. *Theoretical and Applied Genetics* 59: 235-238.