

Université catholique de Louvain

École de biologie



Université de Namur

Département de biologie

Impacts de l'autotoxicité lors de l'utilisation de gramine et d'hordénine sur la croissance racinaire de l'orge (*H. vulgare* L.)

Verstraeten Émeline

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme

de Master en Biologie des Organismes et Ecologie

Promoteur : Xavier Draye (ELIA)

Année académique 2022-2023

Remerciements

En premier, j'aimerais remercier mon promoteur, Professeur Xavier Draye. Une multitude de remerciements lui vont, que ce soit pour avoir accepté une biologiste parmi les bioingénieurs, ou encore pour sa présence, sa proximité avec les étudiants, ses discussions très terre à terre et ses idées toujours très inventives. Il s'est toujours rendu disponible quand il le fallait, et c'est un grand plaisir de l'avoir eu comme promoteur.

De plus, je remercie mes lecteurs et membres de jury d'avoir accepté de consacrer du temps à mon travail.

Ensuite, des remerciements vont évidemment à Monsieur Renaud Bulpa, mémorant ayant commencé ce sujet et m'ayant aidée à traverser les monts et marées que représentait ce mémoire. En plus d'un partenaire de travail, j'ai trouvé un ami et un partenaire de blagues. Je n'aurais pas pu demander mieux.

Une personne qui a souvent apporté une aide très précieuse est Thomas Dagbert. Que ce soit pour des moments formels ou informels, il a su montrer son indispensabilité et sa valeur au sein de cette expérience et au sein de ce laboratoire.

Évidemment, j'aimerais remercier mes parents, qui m'ont supportée pendant toutes ces (très longues) années d'étude et m'ont encouragée jusqu'à la fin.

Un immense merci va aussi à mes relecteurs. L'orthographe n'étant pas toujours mon fort, je remercie énormément Karine et Noé, sans qui certaines paires d'yeux auraient peut-être saigné. Ils ont effectué un travail formidable et je leur dois beaucoup. Dans le même domaine, je remercie Mathilde, Johanna, Christian Arthur, et Alex. Chacun a su porter sa pierre à l'édifice, que ce soit par de simples encouragements ou par un appel vidéo pour discuter les ajouts essentiels de dernière minute. Il est bon d'être entourée par de telles personnes.

J'aimerais également remercier mes colocataires, lesquels m'ont bravement accompagnée à travers la noirceur des ténèbres, à la rescousse de mes plantes dans les serres sombres et effrayantes lors des nuits les plus obscures.

Enfin, j'aimerais remercier le laboratoire PEPA pour son accueil. Cette dernière phrase peut paraître un peu bateau, mais j'ai véritablement passé de merveilleux moments au sein de ce laboratoire, et cela n'aurait pas pu être possible sans toutes les personnes (et surtout le chien de service) qui l'habitent.

Table des matières

Remerciements	2
1. Résumé - La sensibilité de la croissance racinaire lors de l'utilisation de gramine et d'hordénine et son hérédité chez l'orge commune.....	5
2. Summary – Root growth sensitivity to gramine and hordenine and its inheritance in common barley.	6
3. Introduction	7
a. Contexte.....	7
b. Notions importantes	9
Allélopathie.....	9
Orge	12
Autotoxicité	13
Gramine et hordénine	14
Aéroponie	17
RootPhAir (<i>Plant Phenotyping Facility</i> , n.d.)	19
4. Objectifs et hypothèses	21
5. Matériel et méthode.....	23
a. Déroulement global	23
b. Matériel biologique.....	24
c. Protocole expérimental	24
Germination.....	24
Transfert vers la plateforme	26
Durant l'expérience	28
Fin de l'expérience.....	29
Prise de données	29
d. Design expérimental	31
Plantes et bacs.....	31

Traitements et expériences	32
e. Méthodes d'analyses statistiques	34
6. Résultats.....	40
a. Expérience 1 : prise en main des petits bacs aéroniques.....	40
b. Expérience 2 : période de récupération et impact des produits	42
c. Expérience 3 : clarification de l'impact des produits.....	47
d. Expérience 4 : précision de l'impact et de la période de récupération.....	50
e. Expérience 5 : vérification de l'effet de température	53
f. Expérience 6 : prise en main de RootPhAir	56
g. Expérience 7 : variabilité génétique de la réponse de l'orge à la gramine et à l'hordénine	58
7. Discussion	66
8. Perspectives	68
9. Bibliographie	71
a. Références	71
b. Figures et tableaux.....	75
10. Annexes.....	77
a. Annexe 1 : Liste des variétés utilisées pour l'expérience 7	77
b. Annexe 2 : Fiche de préparation de la solution nutritive Hewitt	78
c. Annexe 3 : Protocole de rinçage de la plateforme RootPhAir.....	79
d. Annexe 4 : Design expérimental du bac A et du bac B	83
e. Annexe 5 : Sorties des tests d'hypothèses du GLM de l'expérience 7	112

1. Résumé - Impacts de l'autotoxicité lors de l'utilisation de gramine et d'hordénine sur la croissance racinaire de l'orge (*H. vulgare* L.)

La gestion des adventices dans les cultures de céréales est depuis toujours un véritable défi pour l'agriculture. Afin de réduire l'usage des herbicides de synthèse dans les cultures d'orge, l'allélopathie est un mécanisme pouvant représenter une alternative durable et naturelle. En effet, l'orge est une espèce hautement allélopathique capable de libérer des composés pouvant perturber le développement des adventices. Cependant, ces composés peuvent parfois avoir un effet sur la croissance de l'orge même. Ce cas particulier de l'allélopathie est appelé *autotoxicité*, et implique que l'utilisation des produits contre les adventices dans les cultures pourrait également impacter l'orge elle-même.

Ce mémoire s'inscrit donc dans la recherche d'une meilleure compréhension du phénomène d'autotoxicité chez l'orge pour le cas de la gramine et l'hordénine, deux molécules allélopathiques produites entre autres par les racines de l'orge. L'objectif final est de déterminer s'il y a un contrôle génétique de la réponse racinaire lorsque les racines sont exposées à ces molécules pour, dans le futur, pouvoir en tester l'héritabilité chez les variétés, et éventuellement créer une variété hautement allélopathique mais peu autotoxique.

Diverses hypothèses ont été faites selon les expériences. L'hypothèse concernant la baisse de croissance lors de l'application de produit a été vérifiée pour la gramine et l'hordénine à 2 mM. De plus, on a observé durant les expériences que les réponses étaient éventuellement dépendantes des concentrations des produits appliqués, mais plus d'informations permettraient sûrement une clarification de la relation dose/réponse, et éventuellement une révélation d'un effet de priming. De plus, la réponse à l'hordénine ou à la gramine n'était pas toujours la même aux mêmes concentrations. La période de récupération où la vitesse de croissance augmente après que les plantes soient sorties des traitements n'a cependant pas été identifiée clairement, même dans le cas où les produits sont retirés. Enfin, pour ce qui concerne le contrôle génétique impliqué dans la réaction racinaire face aux produits pour les variétés testées, on en a observé entre 47,27 % et 76,27 % selon la concentration et la molécule. Il y a donc bel et bien un contrôle génétique important dans la réponse aux produits.

2. Summary – Impacts of autotoxicity when using gramine and hordenine on root growth in barley (*H. vulgare* L.)

Weed management in cereal crops has always been a real challenge for agriculture. In order to reduce the use of synthetic herbicides in barley crops, new mechanisms are looked into, such as allelopathy which is a mechanism that can represent a sustainable alternative. Indeed, barley is a highly allelopathic species capable of releasing compounds that can disrupt the development of weeds. However, these compounds can sometimes have an effect on the growth of barley itself. This specific case of allelopathy is called autotoxicity and implies that the use of weed control products in barley crops could also have an impact on barley itself.

The aim of this thesis is to gain a better understanding of the phenomenon of autotoxicity in barley in the case of gramine and hordenine, two allelopathic molecules produced by barley's roots, among others. The overall goal is to determine whether there is genetic control of the root response when roots are exposed to these molecules, so that in the future we can test their heritability in varieties, and possibly create a variety that is highly allelopathic but not very autotoxic.

Various hypotheses were put forward, depending on the experiments. The hypothesis concerning root growth inhibition when the product is applied was verified for gramine and hordenine at 2 mM. In addition, it was observed during the experiments that the responses were possibly concentration-dependent, but more information would surely allow a clarification of the dose/response relationship, and possibly reveal a priming effect. Moreover, the response to hordenine or gramine was not always the same for equal concentrations. However, the recovery period when growth rate increases after the plants have come off the treatment was not clearly identified, even in the case where the products are withdrawn. Finally, with regard to the genetic control involved in the root reaction to the products for the varieties tested, we observed between 47.27% and 76.27%, depending on the concentration and the molecule. Consequently, there is considerable genetic control in the response to products.

3. Introduction

a. Contexte

Depuis quelques décennies, de plus en plus de problèmes se font remarquer et requièrent notre attention, que ce soit d'un point de vue climatique, environnemental ou autre. Une partie de ces problèmes ont été induits par l'activité humaine, et nombreux sont ceux qui s'affairent maintenant à les étudier pour, dans l'idéal des choses, limiter leurs conséquences néfastes. Le terme « problème » étant très large, ce mémoire ne pourra pas s'attarder à chaque problème apparu ce dernier siècle, mais bien de l'étude d'un seul d'entre eux : la difficulté de gestion des adventices dans le cadre d'une utilisation plus respectueuse et raisonnée des herbicides. Le problème posé par les adventices, ou « mauvaises herbes », comme on les appelle en langage courant, est qu'elles interfèrent avec le bon développement des cultures. Effectivement, elles entrent en compétition pour les ressources, compliquent le passage des machines pour les récoltes, entraînent une perte de qualité des produits (Milberg & Hallgren, 2004), etc. À cause de tous ces éléments, les adventices causent des pertes économiques importantes chaque année (Gharde *et al.*, 2018 ; Popp *et al.*, 2013). En revanche, leur contrôle, voire leur élimination, permet de favoriser grandement la rentabilité des cultures. Néanmoins, l'usage fréquent d'herbicides pose divers problèmes, tels que l'apparition de résistances au sein des adventices, de pollution environnementale (James *et al.*, 2022), d'impacts sur la santé humaine (Hasanuzzaman *et al.*, 2020), d'impacts sur les cultures elles-mêmes (James *et al.*, 2022), etc. Dans une ère où on parle de plus en plus d'agroécologie et de respect de l'environnement, l'idéal serait de ne plus devoir utiliser d'herbicides afin d'éviter tous ces effets néfastes. Mais le problème des adventices gênant les cultures reste présent. De nouvelles solutions, plus responsables et respectueuses de notre environnement, sont donc à trouver, et ce mémoire participe à ces recherches.

La première étape en résolution de problèmes consiste à en trouver la source. Dans notre modèle agricole, beaucoup de facteurs favorisent la dispersion de ces plantes gênantes. Pour certaines adventices, l'usage de moissonneuses-batteuses augmente significativement la dispersion (Fried *et al.*, 2019). En effet, lorsque la moissonneuse-batteuse passe, elle écrase et coupe certaines adventices, et leurs graines restent collées aux roues ou aux hélices de l'engin. Ces graines seront transportées dans le champ suivant et réparties sur ce nouveau terrain. Un autre facteur de dispersion est l'irrigation (Fried *et al.*, 2019), laquelle répand les graines d'adventices présentes dans l'eau. Un troisième facteur, malgré son aspect de prime abord

contre-intuitif, est le manque de bandes herbeuses le long des cultures. Effectivement, une étude a montré que la présence de bandes herbeuses pouvait aider à diminuer la présence d'adventices dans les cultures (Cordeau, 2010). Hors nos méthodes d'agriculture traditionnelle ne laissent pas souvent la place pour ces bandes aux bords des champs. Tous ces éléments, ainsi que d'autres, participent à la dispersion des adventices dans nos cultures.

Une deuxième étape consiste évidemment en la résolution du problème d'adventices. Il y a deux approches globales pour le résoudre : changer la manière dont on cultive nos céréales, ou changer la manière dont on contrôle ces plantes problématiques. La première manière serait la plus durable et sera probablement petit à petit mise en place au cours des années à venir, mais étant donné ses coûts importants et les années de transition qu'elle implique à l'échelle mondiale, nous allons ici nous focaliser sur la deuxième. Pour la deuxième approche, plusieurs possibilités ont été imaginées pour lutter contre ces adventices. Une première solution exploite les bioherbicides (Hasanuzzaman *et al.*, 2020). Ce type d'herbicide se dégrade plus vite et est donc moins nocif à long terme pour l'environnement. Deux catégories principales de bioherbicides ont déjà été développées : les dérivés de plantes et les bioherbicides microbiens ; l'un comme l'autre ayant des avantages et inconvénients en comparaison des herbicides traditionnels. Outre cela, des méthodes plus traditionnelles sont également disponibles pour lutter contre les adventices, bien que souvent plus chronophages. Par exemple, le paillage (Cordeau & Moreau, 2017 ; *Mauvaises Herbes*, 2021) permet d'éliminer les adventices de manière efficace, tout comme le travail du sol (*Mauvaises Herbes*, 2021), la tonte (Bullock, 1992 ; *Mauvaises Herbes*, 2021), les rotations de cultures (Bullock, 1992), le couvert végétal (Cordeau & Moreau, 2017), etc. Malgré ces nombreuses options, toutes ne sont pas facilement réalisables en tout cadre, et un grand besoin de nouvelles alternatives se fait sentir. Certaines études se sont donc penchées sur la propriété de certaines plantes à inhiber la croissance de leurs voisines afin d'utiliser cette capacité pour se débarrasser de ces adventices.

Dans le cadre du projet « European Plant Phenotyping Network » (EPPN 2020), l'expérience *AEROTOX* s'est penchée sur ce type de solutions. Elle a été proposée par Dr. Claude Becker et Dr. Zane Duxbury, chercheurs au Gregor Mendel Institute of Molecular Plant Biology (GMI) de Vienne. *AEROTOX* a pour objectif d'**utiliser l'aéroponie pour mesurer la tolérance à l'autotoxicité de différents géotypes d'orge, ce dernier étant connu pour sa haute capacité à libérer des herbicides naturels**. L'autotoxicité désigne le fait que la plante produit des

composés qui affectent, entre autres, sa propre espèce, si pas elle-même. En d'autres mots, le but est de vérifier si la capacité de l'orge à résister aux herbicides naturels qu'elle produit affiche une variabilité héritable. Un débouché appliqué du projet pourrait être de développer des variétés dont la production naturelle d'herbicides est suffisante pour agir sur les adventices, mais dont la sensibilité à ces mêmes molécules est suffisamment faible pour que leur performance agronomique ne soit pas affectée. Toutefois, il est important de d'abord comprendre l'importance de ces molécules dans le développement de l'orge. On ne peut en effet exclure qu'elles soient également importantes pour une croissance optimale de la culture. Avec la collaboration du Prof. Xavier Draye, AEROTOX avait été proposé en 2020, mais n'avait malheureusement pas pu se dérouler à cause de la pandémie de Covid-19. Le but était d'utiliser la plateforme aéronique de l'UCLouvain (Plant phenotyping facility, 2022), aussi appelée « RootPhAir », pour étudier le sujet. La plateforme étant toujours disponible mais les acteurs du projet ne l'étant plus, ce dernier a été proposé comme mémoire à Renaud Bulpa, étudiant en master bioingénieur en sciences agronomiques à l'UCLouvain. Le présent mémoire est construit dans la continuité de son travail. L'objectif était d'étudier l'impact de deux molécules allélopathiques produites par l'orge (l'hordénine et la gramine) sur sa propre croissance racinaire. Ces deux molécules sont déjà bien connues pour leurs propriétés allélopathiques et un peu moins pour leurs propriétés autotoxiques. Cette étude servira en particulier à mieux comprendre la nature et la cinétique de la réponse autotoxique, ainsi qu'à déterminer l'ampleur de la variabilité génétique au sein d'une lignée d'orge.

b. Notions importantes

Avant d'entrer dans le vif du sujet, certaines notions se doivent d'être plus amplement décrites.

Allélopathie

Les termes « herbicides naturels » utilisés ci-dessus se réfèrent aux molécules allélopathiques libérées par certaines espèces végétales. Lorsqu'on regarde les différentes définitions, significations et conceptions populaires du terme « allélopathie », on peut observer une certaine variation. Tout d'abord, l'origine du terme allélopathie se divise en deux parties (Zimdahl, 2018) : « allelo » et « pathie ». La partie « allelo » vient du grec « *allelon* », qui désigne « l'un l'autre », tandis que la partie « *pathie* » vient du grec « *patho* » ou « *pathos* », désignant

la souffrance et la maladie, entre autres termes similaires. L'ensemble du mot représente très bien sa fonction : « se blesser l'un l'autre ».

Ce terme a d'abord été utilisé en 1930 par Hans Molisch (Tremblin & Marouf, 2021), puis retravaillé en 1984 par Elroy L. Rice (Wang *et al.*, 2013). L'allélopathie se définit aujourd'hui comme « tout processus impliquant des métabolites secondaires produits par des plantes, algues, bactéries et champignons qui influence la croissance et le développement des systèmes agricoles et biologiques » (*International Allelopathy Society*, n.d.). Plusieurs remarques peuvent être émises par rapport à cette définition : (I) elle englobe pratiquement tout phénomène biologique impliquant des métabolites secondaires et (II) elle ne différencie pas les interactions bénéfiques de celles néfastes, ce qui n'est pas cohérent avec l'origine du terme. Or, l'usage « familier » du terme désigne cette influence néfaste qui, toujours à l'aide de métabolites secondaires, impacte la croissance et la reproduction de plantes, algues et champignons environnants. Pour la suite de ce travail, nous nous concentrerons sur ces effets négatifs.

Plusieurs moyens sont retrouvés chez les plantes pour l'émission de ces composés allélopathiques. Un premier moyen implique des composés volatiles (Birkett *et al.*, 2002 ; Kinghorn *et al.*, 2020 ; Muller *et al.*, 1964). Ces composés sont gazeux et libérés par les feuilles ou les racines des plantes. Leurs effets sont variables, et peuvent consister, entre autres, en de la communication chimique entre plantes (Dicke & Baldwin, 2010), ou encore de l'attraction/répulsion de certains insectes (Kong *et al.*, 2005). Une deuxième forme d'allélopathie passe par des molécules produites par les parties caulinaires (et éventuellement racinaires) de la plante vivante, puis lessivées par la pluie sur d'autres plantes ou jusqu'au sol, où elles pourront agir (Birkett *et al.*, 2002 ; Kinghorn *et al.*, 2020). Ces molécules sont non volatiles mais se déplacent tout de même avant d'arriver à bon port. Un des effets possibles des composés lessivés est l'inhibition de croissance (Tukey, 1969). Une troisième méthode, qui est probablement la plus étudiée en raison son potentiel en termes de contrôle d'adventices en agriculture, consiste en l'exsudation de composés par les diverses parties de la plante et ce directement sur l'individu cible, lorsqu'il y a contact entre les deux (Birkett *et al.*, 2002 ; Kinghorn *et al.*, 2020). Ce type d'émission est particulièrement connu pour les parties racinaires. Dans ce cas précis, les molécules exsudées restent autour de la racine source, et ce n'est que lors de l'approche d'une autre racine que les composés auront un effet sur celle-ci. Un dernier moyen souvent mentionné dans la littérature est l'émission de composés allélopathiques durant la création de nécromasse (matière organique non vivante) (Birkett *et al.*, 2002 ;

Kinghorn *et al.*, 2020). Effectivement, tout au long de sa vie, la plante va effectuer de l'allélopathie par divers moyens et, ce faisant, elle va produire des molécules allélopathiques à différents endroits de son organisme. Une fois morte, la plante n'excrète plus ces molécules malgré le fait que certains tissus, comme l'épiderme ou le parenchyme (Argandoña *et al.*, 1987), en contiennent toujours. Ce n'est que lorsque ces tissus commencent à se décomposer que les molécules sont relâchées dans l'environnement. Ces composés sont alors soit directement en contact avec d'autres organismes, soit emportés par l'eau dans le sol, affectant les racines des individus environnants, ainsi que d'autres organismes du sol. Ce dernier mécanisme ressemble beaucoup aux deux précédents, excepté pour le fait que les molécules ne sont pas émises de manière active. La figure ci-dessous (fig. 1) est une synthèse visuelle des différentes méthodes de libération de composés allélopathiques.

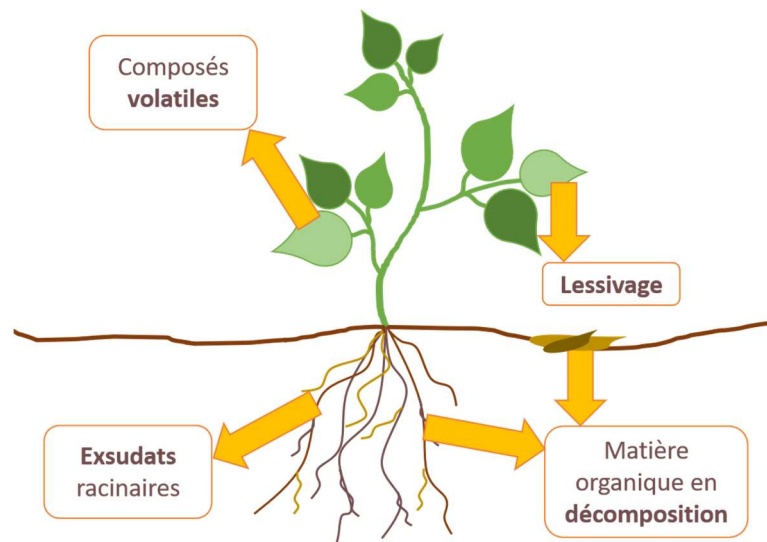


Figure 1 : Schéma représentant les différents mécanismes de libération de composés allélopathiques. Inspiré de Birkett *et al.* 2002.

Mais quel est l'avantage évolutif pour les espèces faisant de l'allélopathie ? Pour répondre à cette question, certaines hypothèses sont déjà communément admises. Une d'entre elles concerne l'effet de l'allélopathie dans les interactions de compétition (Hierro & Callaway, 2021), qu'elle soit intra ou interspécifique. La sélection naturelle mène les espèces à toujours augmenter leur valeur adaptative (fitness), laquelle indique à quel point un individu est apte à survivre et à se reproduire dans son milieu. Un individu ayant de meilleures capacités de compétition aura donc souvent une meilleure valeur adaptative. Dans le contexte de l'allélopathie, la plante peut avoir une influence négative sur ses voisines en libérant certains composés allélopathiques. Cette influence peut être néfaste pour la croissance et la reproduction des voisines en question. Dès lors, ces dernières risquent soit de pousser en direction opposée, laissant un peu plus de place pour les organes de la plante source, soit de

dépérir, laissant beaucoup plus de place et lui permettant donc de capter plus de nutriments, d'eau et de lumière (Bouhaouel *et al.*, 2015). L'allélopathie peut donc bien permettre d'accroître la compétitivité de l'individu émetteur, ainsi que sa valeur adaptative, ce qui est une potentielle explication de son maintien à travers le temps et malgré la sélection naturelle, et donc un éclairage sur son origine évolutive.

Un dernier aspect important à souligner pour ce qui concerne l'allélopathie est l'espèce cible. Effectivement, dans certains cas, les composés allélopathiques relâchés vont affecter l'espèce qui les relâche. On parle alors d'autotoxicité (Miller, 1996), cas dans lequel la plante affecte donc sa propre espèce, y compris elle-même. Ceci s'oppose à l'hétérotoxicité (Miller, 1996), cas dans lequel la plante affecte d'autres espèces. Le cas de l'autotoxicité sera développé plus amplement par la suite.

Orge

Comme dit précédemment, ce mémoire porte sur l'orge commune, ou *Hordeum vulgare* L. (fig. 2). Cette espèce est une angiosperme monocotylédone de la famille des *Poaceae* (Jacquemart & Descamps, 2019). De ce fait, l'orge est une graminée annuelle (*Hordeum Vulgare* L., n.d.). La répartition de ses cultures recouvre l'Europe dans des climats chauds comme froids (*Hordeum Vulgare* L., n.d.), et elle est utilisée dans l'agriculture depuis au moins 10 000 ans (Badr *et al.*, 2000). En 2021-2022, environ 157,05 millions de tonnes d'orge ont été récoltées, ce qui en fait la 4^{ème} céréale la plus produite au monde, après le maïs, le riz et le blé (*Grain Production Worldwide by Type 2021/22, 2022*). Ses grains sont principalement utilisés pour la production d'aliments servant au bétail, de malts de bière/whisky, de denrées alimentaires et de semences pour les cultures (Ullrich, 2011). L'orge présente trois phases de croissance : végétative, reproductive et de maturation (*Hordeum vulgare* L., n.d.). L'expérience se concentrera sur le début de la phase végétative, et non sur la phase reproductive et la phase de maturation.

Ce choix d'espèce végétale a été motivé pour plusieurs raisons. Une première raison est le fait que l'orge produit au moins 44 composés allélopathiques, dont 11 sont des exsudats racinaires (Bouhaouel *et al.*, 2015). C'est donc une plante très active quand il s'agit d'allélopathie (Kremer & Moncef, 2009) et donc potentiellement intéressante à étudier dans le cadre des bioherbicides. Une autre raison est le fait que l'orge est diploïde et qu'il est donc plus



Figure 2 : Représentation d'*Hordeum vulgare*. Thomé *et al.* 1886.

aisé d'en étudier la génétique que d'étudier celle du blé (hexaploïde), notamment pour la cartographie de locus de traits quantitatifs (QTL – Quantitative trait locus analysis). Enfin, et ceci concerne les éventuelles applications à long terme, l'orge est une ressource agricole importante, et les impacts de l'utilisation de pesticides affectent aussi ses récoltes.

L'orge fait partie de la famille des monocotylées, donc son système racinaire est fasciculé (Jacquemart & Descamps, 2019). Lors de la germination (phase embryonnaire), une première racine séminale sort de la graine : la radicule. Elle est suivie par plusieurs autres racines, toutes séminales et de même aspect que la première. Toutes ces racines partent du collet, point de la tige séparant les parties aériennes (ou caulinaires) et les parties racinaires. Une fois la phase post-embryonnaire entamée, d'autres racines vont apparaître. Des racines latérales vont pousser sur les racines séminales tandis que des racines nodales peuvent apparaître à certains nœuds au-dessus du collet. Dans la majorité des cas, pour un système fasciculé, les racines séminales sont de diamètre similaire, et ont une croissance relativement similaire, bien que celle-ci puisse varier en fonction de l'environnement. Ce type de système racinaire s'oppose au système racinaire pivotant, où une seule racine séminale sort de la graine, tandis que les racines secondaires poussent sur cette unique racine. Dans ce cas-là, la racine séminale est d'aspect plus important que les autres racines.

Autotoxicité

Comme précisé précédemment, l'allélopathie peut avoir des effets positifs comme négatifs. Dans le deuxième cas, l'aspect néfaste peut être dirigé vers l'espèce de la plante source et on parle alors d'autotoxicité (Miller, 1996). Les plantes autotoxiques produisent des composés allélopathiques attaquant leur propre espèce (voire elles-mêmes). De par ces faits, l'autotoxicité est dite intraspécifique (*au sein d'une espèce*) tandis que l'hétérotoxicité (impact sur les autres espèces) est dite interspécifique (*entre espèces*). Le terme autotoxicité est d'ailleurs un synonyme d'autointoxication ou d'autoallélopathie (Singh *et al.*, 1999), mais les traductions de ces termes ne sont que peu retrouvées dans la littérature anglophone. L'orge fait partie de ces espèces où l'on observe ce phénomène d'autotoxicité.

Tout comme l'origine évolutive de l'allélopathie, celle de l'autotoxicité a beaucoup été discutée. Une des difficultés est que l'autotoxicité devrait *a priori* diminuer la valeur adaptative de l'individu et devrait donc, à ce titre, avoir été défavorisée sous un angle évolutif. Dès lors, si ce phénomène a été maintenu par l'évolution, c'est qu'il confère tout de même des avantages surpassant les désagréments, sans quoi les plantes autotoxiques auraient moins prospéré et

auraient été surpassées par les plantes uniquement hétérotoxiques. L'alternative à cette situation aurait été que le trait n'ait pas encore été éliminé par l'évolution, cas pour lequel l'autotoxicité ne serait pas héritable de parents à enfant (mais bien sous contrôle génétique). Ces différentes possibilités montrent l'intérêt de mieux comprendre comment l'autotoxicité se manifeste, ainsi que son déterminisme génétique, s'il y en a un. D'un côté plus écologique, certains avantages à l'autotoxicité ont été identifiés (Singh *et al.*, 1999). Un premier est la meilleure répartition des progénitures. En effet, les graines à proximité vont se voir empêcher leur germination par les substances allélopathiques de la plante mère, ce qui fait que seules les graines plus lointaines auront l'occasion de pousser, dispersant plus la population. Cet avantage est lié à un autre avantage qui est la régulation de population. En effet, l'autotoxicité permet d'éviter la surpopulation, tout en offrant la possibilité d'avoir des plantes plus fortes et sans carence. Un troisième bénéfice est le fait de permettre aux graines de germer uniquement lors de l'arrivée de la pluie, laquelle lavera les composés toxiques et lèvera l'inhibition de la germination, assurant à ces jeunes plantules un apport suffisant en eau pour le début de leur croissance. Ceci est un élément très important dans les climats secs. Ces éléments expliquent en quoi, dans certains cas, la production de ces composés par l'espèce est un avantage pour celle-ci. C'est donc de la sélection de groupe qui aurait permis à l'autotoxicité d'être maintenue à travers l'évolution.

Gramine et hordénine

Parmi tous les composés allélopathiques relâchés par l'orge, la gramine et l'hordénine sont les deux seuls alcaloïdes. Ces deux molécules étaient les deux premières reconnues comme ayant des effets allélopathiques chez l'orge (Liu & Lovett, 1993 ; Overland, 1966). On sait depuis que la gramine a un effet plus marqué que l'hordénine, en tous cas lorsqu'il s'agit d'inhibition de croissance racinaire (Lebecque, 2019). On sait aussi que la production d'hordénine est moins sujette au contrôle génétique, mais plus au contrôle environnemental, au contraire de celle de la gramine (Lovett *et al.*, 1994).

La première molécule choisie pour ce mémoire est la gramine, dont le nom chimique est 3-(diméthylaminométhyl)-indole (*International Union of Pure and Applied Chemistry*, 2022). Sa formule brute est $C_{11}H_{14}N_2$, avec une forme semi-développée de $(C_8H_6N)CH_2N(CH_3)_2$ (fig. 3). Comme le montre sa formule, elle porte une base azotée, ce qui en fait un alcaloïde formé à partir d'indole (*Indole Derivative*, n.d.) (fig. 4), qui est une structure aromatique.

La gramine peut être présente dans les feuilles, les racines, et les exsudats racinaires de l'orge (Yoshida *et al.*, 1993). D'autres plantes que l'orge contiennent de la gramine, comme certaines espèces de la famille des *Phalaris* (Cheeke, 1989 ; Corcuera, 1993), certaines espèces de la famille *Hordeum* (Cheeke, 1989 ; Corcuera, 1993), ou encore l'espèce *Acer saccharinum* (Cheeke, 1989), etc.

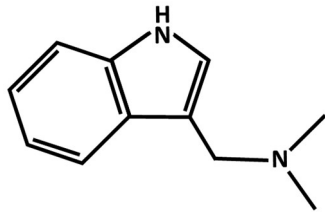


Figure 3 : Structure moléculaire de la gramine. Inspiré de Lebecque 2019.

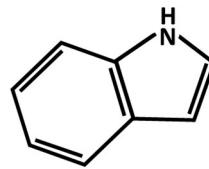


Figure 4 : Structure moléculaire d'un noyau indole. Inspiré de Horinouchi 2010.

La gramine, comme l'hordénine, n'a pas qu'un rôle allélopathique, que ce soit chez l'orge ou chez d'autres espèces. Outre cette capacité, elle est aussi connue comme pouvant conférer une résistance contre certains insectes comme les pucerons (Corcuera, 1993 ; Kanehisa *et al.*, 1990) et les larves de *Mythimna convecta* (Kanehisa *et al.*, 1990), mais aussi contre certains champignons comme *Drechslera teres* (Liu & Lovett, 1993), entre autres. D'autres propriétés sont étudiées, comme, par exemple, dans le milieu médical (blessures à la moelle épinière (Lu *et al.*, 2021), recherche contre le cancer (Ke *et al.*, 2012), etc.) ou dans le milieu de la chimie (Quartarone *et al.*, 2012).

À titre indicatif, voici la voie de synthèse de la gramine à partir du tryptophane, un acide aminé, dans l'orge (fig. 5). Il est intéressant de noter que l'auxine (fig. 6), qui est très impliquée dans la croissance et le développement chez les plantes, est également produite à partir du tryptophane et a une structure proche de celle de la gramine.

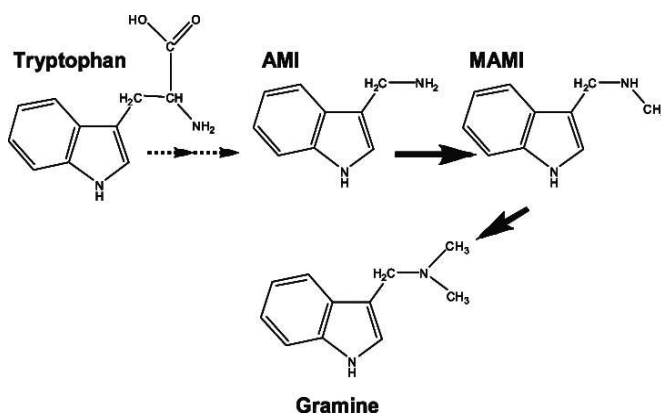


Figure 5 : Voie de synthèse de la gramine à partir du tryptophane dans l'orge. AMI = 3-aminométhylindole. MAMI = N-méthyl-3-aminométhylindole. Larson *et al.* 2011.

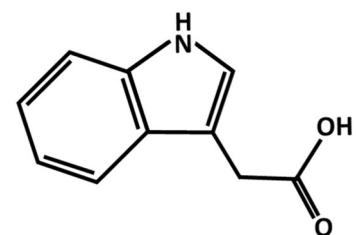


Figure 6 : Structure moléculaire de l'auxine. Inspiré de Cassán *et al.* 2014.

La deuxième molécule choisie est l'hordénine. Son nom chimique est la 4-[2-(Diméthylamino)éthyl]phénol (Kremer & Moncef, 2009 ; Montier, 2021). Sa formule brute est $C_{10}H_{15}ON$ et sa formule semi-développée est $HO(C_6H_4)(CH_2)_2N(CH_3)_2$ (fig. 7). De par sa structure, l'hordénine fait partie de la grande famille des molécules portant un cycle aromatique, plus

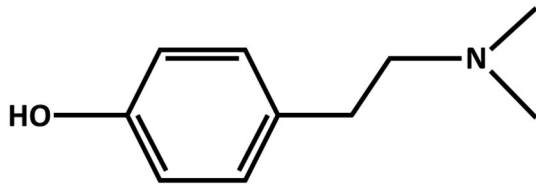


Figure 7 : Structure moléculaire de l'hordénine.
Inspiré de Lebecque 2019.

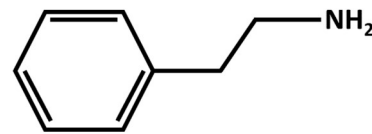


Figure 8 : Structure moléculaire d'un alcaloïde phényléthylamine. Inspiré de Tsoucaris 1961.

précisément des alcaloïdes de la classe des phényléthylamines, signifiant donc que l'hordénine comporte le noyau caractéristique du groupe (fig. 8).

L'hordénine peut également être présente dans les feuilles, les racines, et les exsudats racinaires de l'orge, et, comme la gramine, l'hordénine peut être produite par de nombreuses espèces végétales autres que l'orge, comme, par exemple, la *Dutaillyea oreophila* (Baudouin *et al.*, 1981). Elle peut également être retrouvée dans des champignons et des algues (Smith, 1977).

De même que la gramine, l'hordénine est connue dans d'autres domaines que l'allélopathie. Par exemple, l'hordénine peut être utilisée comme substance énergisante (illicite) chez les chevaux de course, entre autres mammifères (Hapke & Strathmann, 1995 ; Montier, 2021). Un autre exemple serait l'utilité de l'hordénine dans la lutte contre la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* (Zhou *et al.*, 2018). Enfin, cette molécule est également utilisée dans le domaine médical depuis longtemps (Smith, 1977).

Ci-dessous, à titre indicatif à nouveau, la voie de synthèse de l'hordénine à partir de la phénylalanine, un autre acide aminé, dans l'orge (fig. 9).

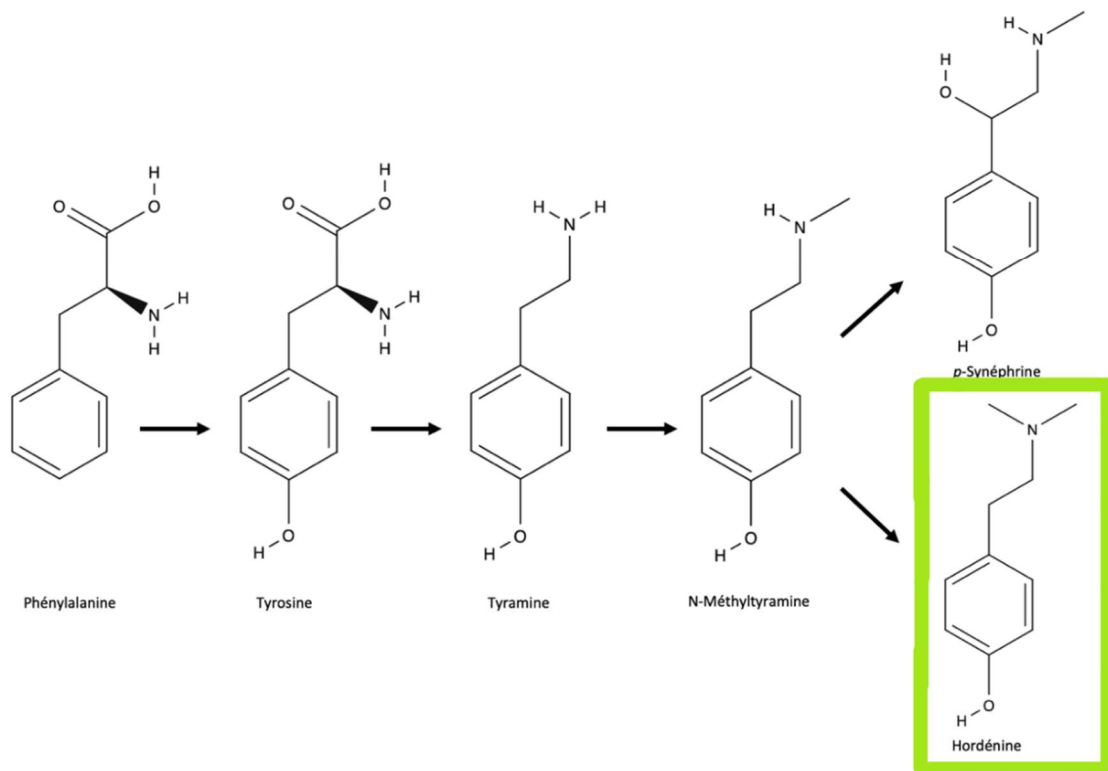


Figure 9 : Voie de synthèse menant à l'hordénine à partir de la phénylalanine dans l'orge. Montier L. 2021.

Aéroponie

Le terme « aéroponie » est issu du grec « *aēr* », relatif à « l'air », du grec « *ponos* », désignant le « travail », et enfin du suffixe « -ics », signifiant que le mot est relatif à « l'étude / à la connaissance » (*AEROPONIC | Lexico, 2022*). L'aéroponie désigne le fait de cultiver des plantes hors sol, dans un bac où un système de brumisation est mis en place. Les racines sont donc au contact de l'air, dans la pénombre, et délicatement aspergées de solution nutritive à intervalles de temps réguliers. Bien entendu, le système caulinaire (aérien) des plantes reste à la lumière. Sur la figure 10, on peut voir les éléments généraux d'un dispositif de culture aéroponique. Les plantes sont placées à travers des trous faits dans une plaque de polystyrène recouvrant le bac. De cette manière, la solution nutritive est propulsée par la pompe dans les tuyaux et brumisée par les embouts situés au bout de ces tuyaux. La pression envoie cette solution directement sur les racines, après quoi elle ruisselle au fond du bac pour ensuite être récupérée et renvoyée dans le système de pompage.

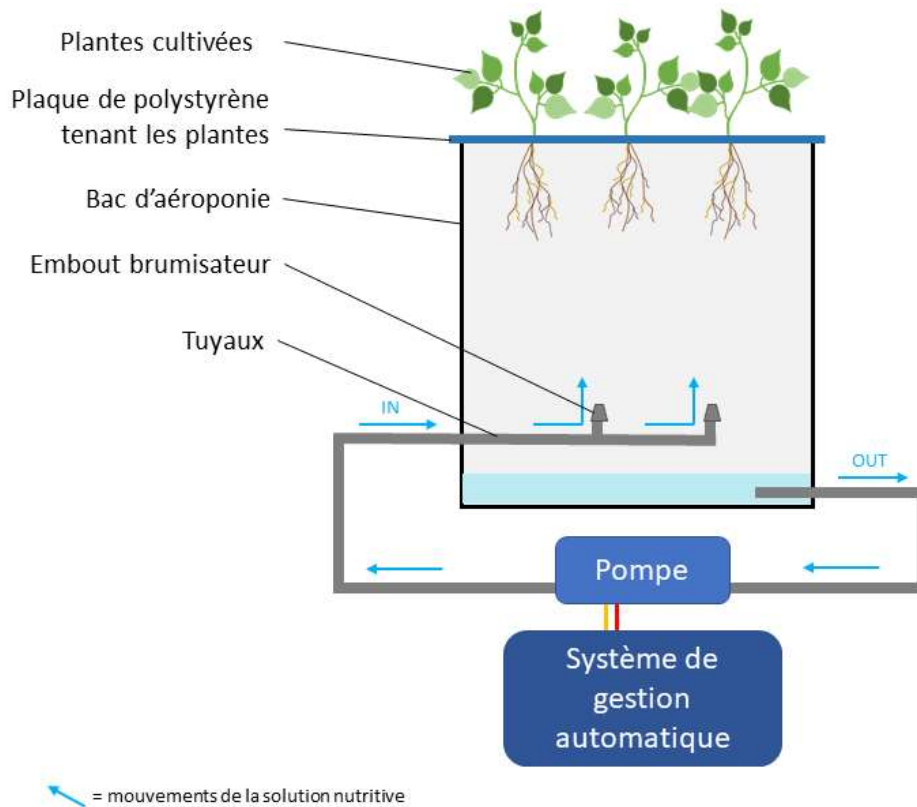


Figure 10 : Schéma de la structure globale d'un système aéroponique basique vu de côté. Les flèches bleues représentent les mouvements de la solution nutritive. Inspiré de l'article de Peterson et al. 1988 et du dispositif présent dans les serres de l'UCLouvain.

Ce système se rapproche de l'hydroponie, où les racines sont plongées constamment dans la solution nutritive. Dans les deux cas, le système racinaire se développe sans restriction mécanique, ce qui mène à penser qu'il se développe de manière plus uniforme et constante. L'aéroponie a également l'avantage de permettre aux racines d'être en contact avec l'air, ce qui diminue les limitations en termes d'échanges gazeux (CO_2 produit et O_2 requis pour le métabolisme) et augmente la croissance racinaire (Ritter *et al.*, 2001). Par ailleurs, comme la solution au contact de la racine constitue un film très fin, les exsudats racinaires y résident un certain temps et modifient la composition de la solution au contact de la racine, comme c'est le cas dans une rhizosphère naturelle. En revanche, la mise en place de l'aéroponie peut s'avérer plus compliquée, étant donné le matériel nécessaire au bon fonctionnement de ce genre de plateforme en comparaison à l'hydroponie. L'unique avantage de l'aéroponie, dans le cadre de notre projet, est que les racines peuvent être observées sans aucun contact et donc de manière répétée et non invasive. Dans le cas de l'hydroponie, les racines doivent être sorties de l'eau pour chaque observation, ce qui implique de multiples manipulations et perturbations de la croissance. Enfin, les deux systèmes permettent le développement d'une racine avec un microbiome naturel extrêmement réduit (ce qui peut être vu comme un avantage ou un inconvénient, selon l'objectif de l'étude).

RootPhAir (Plant Phenotyping Facility, n.d.)

La plateforme RootPhAir est une plateforme d'aéroponie récemment créée par une équipe de l'UCLouvain avec pour but de permettre l'observation automatisée et à haut débit de la croissance du système racinaire dans un environnement aéroponique régulé. RootPhAir permet ainsi d'avoir une séquence temporelle d'images d'un grand nombre de plantes.

RootPhAir est un système d'aéroponie classique pouvant contenir jusqu'à environ 1000 plantes réparties dans deux bacs. Un scanner d'une résolution spatiale de $3,5 \mu\text{m}$ est installé au bout de chaque bac. Les plantes sont amenées par un système de convoyeur les faisant passer une par une devant le scanner (fig. 11). À côté de chacune des plantes est fixée une puce électronique (RFID) permettant au système de reconnaître l'identité de la plante située en face du scanner. Le scanner est constitué d'une caméra et d'un fond lumineux, ce qui permet d'obtenir une image à haut contraste où le système racinaire apparaît entièrement noir sur un fond blanc. Grâce à cela, les photos seront plus facilement traitables par le logiciel de la plateforme. La durée d'un scan et des opérations réalisées par les convoyeurs permet de prendre une photo de chaque système racinaire toutes les deux heures environ. Le système RFID permet un classement efficace et automatique des images récoltées, ce qui sera important pour leur analyse. En tout, une expérience peut durer jusqu'à 21 jours, ou jusqu'à ce que les racines dépassent les 60 cm, moment où celles-ci dépassent le champ de vision du scanner. Au-delà de cette durée, les systèmes deviennent souvent très denses, ce qui a pour conséquence dans ce travail, sort du champ de vision du scanner car elle devient trop basse, et les données concernant sa croissance ne sont plus disponibles.

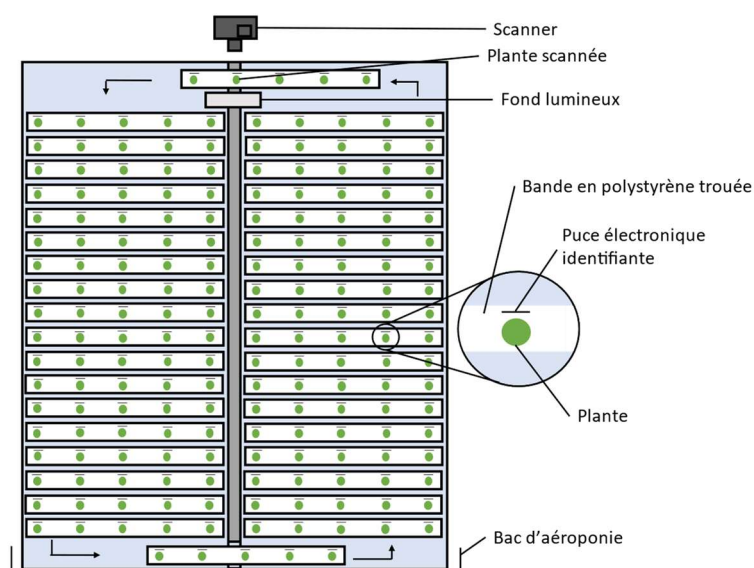


Figure 11 : Schéma simplifié d'un des bacs de la plateforme RootPhAir vu du dessus. Les mouvements des bandes en polystyrène sont indiqués par les flèches noires. Inspiré de la plateforme RootPhAir de l'UCLouvain.

L'analyse des images peut donner les variables suivantes :

- La longueur racinaire maximale
- La **vitesse de croissance** pour chaque racine principale
- Le **nombre de racines primaires** émergeant de la graine
- La densité de racines latérales (nombre de latérales par centimètre de racine mère)
- L'**angle** entre les deux premières racines principales
- La moyenne/le mode/la médiane du **diamètre des racines**

L'aire de l'enveloppe convexe que de nombreuses racines se cachent l'une l'autre (occlusions) et que les mesures extraites de l'analyse d'image sont biaisées. De plus, la racine la plus longue, qui est une donnée utilisée

L'avantage qu'apporte cette plateforme à la recherche est l'automatisation de l'acquisition de données ainsi que la résolution temporelle minimisée pour un nombre important de réplicats. Effectivement, sans cette plateforme, prendre autant de photos d'autant de réplicats tout en analysant les données prendrait plusieurs années de travail continu. De plus, l'aspect automatisé de la prise de données permet un peu plus de liberté au chercheur, alors que les approches conventionnelles de phénotypage manuel demandent le travail continu d'une personne. L'argument temporel vaut aussi pour l'analyse de données qui se fait de manière quasi-automatique avec la suite logicielle AeroScan, alors qu'elle se fait à la main, à l'aide de ImageJ (avec l'extension SmartRoot) pour les plateformes classiques (petits bacs compris), ce qui prend considérablement plus de temps.

4. Objectifs et hypothèses

Ce mémoire s'inscrit dans une recherche générale de solutions quant aux limitations des modes conventionnels de gestion des adventices (herbicides) et aux exigences d'une agriculture plus durable. Plus précisément, trouver des produits naturels permettant de réduire la croissance racinaire d'adventices sans impacter la croissance racinaire de cultures permettrait de changer radicalement le marché des herbicides et l'impact qu'ils ont sur l'environnement.

L'objectif général vise une meilleure compréhension de la cinétique de réponse de la croissance racinaire de l'orge lorsqu'elle est soumise à différentes concentrations de gramine et d'hordénine, deux molécules produites par l'espèce-même. Outre l'impact de ces produits, l'objectif était surtout de distinguer le caractère génétique de la sensibilité aux produits chez l'orge, en utilisant plusieurs variétés (ou lignées génétiques). Le but était donc de trouver des variétés sensibles aux produits ou encore des variétés n'affichant aucune sensibilité. De cette manière, les deux produits testés pourraient être utilisés dans des cultures de variétés d'orge résistantes sans impacter leur croissance mais en les débarrassant des adventices. On pourrait même rêver de créer des variétés produisant de hautes doses de ces produits, et limitant donc elles-mêmes la croissance des adventices.

Ce mémoire a été prévu en deux phases : une phase sur petits bacs aéroniques permettant de tester une variété à plusieurs concentrations et plusieurs situations, et une sur la plateforme RootPhAir, permettant de tester les différentes variétés disponibles à plusieurs concentrations. Les hypothèses ont donc été séparées selon les phases.

Pour la première phase, l'hypothèse principale était que la vitesse de croissance racinaire est réduite lorsque de la gramine ou de l'hordénine est appliquée et que cet effet disparaît lorsque ces substances sont retirées. Ce système d'application transitoire en aéronie nous a paru analogue à la situation d'une racine dans le sol qui se rapproche puis s'éloigne d'une autre racine qui a libéré ces substances dans son environnement. À cette hypothèse s'est ajoutée celle que cette réponse puisse dépendre de la concentration des substances. On s'attendait à ce que la récupération post application soit plus lente pour des concentrations plus fortes et qu'il faille plus longtemps pour revenir à la même croissance racinaire. Notre troisième hypothèse était que l'hordénine et la gramine peuvent avoir un effet différent pour une même concentration sur la croissance de l'orge.

Pour la deuxième phase, notre principale hypothèse concerne l'existence d'une variation de la sensibilité à l'hordénine et la gramine entre les lignées d'orge. Effectivement, il était soupçonné que certains aspects de la résistance à la gramine et à l'hordénine soient sous contrôle génétique. Par exemple, certaines lignées auraient pu avoir une réduction de croissance racinaire moindre suite à l'application des produits. Elles auraient également pu retrouver plus rapidement que d'autres leur vitesse de croissance initiale (ou proche).

5. Matériel et méthode

a. Déroulement global

Plusieurs expériences ont été faites durant ce mémoire. La première phase expérimentale a été réalisée dans des bacs aéroponiques de petite dimension et est constituée de cinq expériences. La seconde phase a été faite sur la plateforme RootPhAir et comprenait deux expériences. Par facilité, les expériences de la première phase (faites sur les petits bacs) seront numérotées de 1 à 5 tandis que les expériences de la deuxième phase (faites sur RootPhAir) porteront les numéros 6 et 7. Le tableau 1 récapitule les dates d'expériences, hors mises en germination.

Tableau 1 : Récapitulatif des dates de début et de fin d'expériences pour toutes les expériences réalisées durant ce mémoire.

Phase	Numéro d'expérience	Date de début	Date de fin
Phase 1	Expérience 1	21/06/2022	29/06/2022
	Expérience 2	02/07/2022	07/06/2022
	Expérience 3	11/07/2022	15/07/2022
	Expérience 4	18/07/2022	22/07/2022
	Expérience 5	17/08/2022	22/08/2022
Phase 2	Expérience 6	19/09/2022 (Bac B)	07/10/2022 (Bac B)
	Expérience 7	17/10/2022 (Bac B)	29/10/2022 (Bac B)
		18/10/2022 (Bac A)	05/11/2022 (Bac A)

L'impact de la gramine et de l'hordénine sur la croissance racinaire de différentes variétés était recherché durant ce mémoire. Pour pouvoir étudier les variétés choisies, il a fallu utiliser une plateforme assez grande que pour contenir assez d'individus de chaque variété et c'est pourquoi deux expériences ont été réalisées sur RootPhAir. Cependant, les expériences dans cette plateforme sont longues et demandent beaucoup de préparation. En faire sans savoir quelles conditions expérimentales adopter aurait été une perte de temps et de ressources. Il a donc été décidé de faire d'abord des expériences sur petit bac aéroponique, afin de trouver les conditions expérimentales optimale (concentration des produits, temps de germination, temps d'expérience, etc.) qui seraient utilisées sur RootPhAir. Les cinq premières expériences étaient donc des expériences préparatoires, l'objectif de chacune étant déterminé par les résultats de la précédente. Plus de détails sur les liens entre expériences seront donnés dans la partie résultats.

b. Matériel biologique

Comme dit précédemment, l'espèce utilisée est l'orge commun (*Hordeum vulgare*). Les expériences de 1 à 6 ont utilisé la variété RGT Planet. L'expérience 7 a utilisé 30 variétés différentes, y compris RGT Planet (Annexe 1). Avant l'expérience, les graines utilisées ont été conservées dans leur emballage d'origine à une température constante de 5°C.

c. Protocole expérimental

Pour chaque expérience, la première étape est de lancer la germination. Ensuite, une fois les graines germées, elles seront placées dans la plateforme aéroponique et les produits seront appliqués. Des données seront prises jusqu'à la fin de l'expérience, puis les plantes seront retirées des bacs pour recommencer une nouvelle expérience. Ci-dessous, le protocole entier va être détaillé, de la germination à la fin d'expérience.

Germination

La première étape de la mise en germination est le compte des graines. Pour s'assurer d'avoir assez de graines germées à mettre dans la plateforme, on multiplie le nombre total de places dans la plateforme par 1,5. De cette manière, il ne risque pas de manquer d'individus développés au début de l'expérience.

Une fois les graines comptées, la désinfection de ces graines peut être réalisée. Les graines sont placées dans une seringue de 50 mL remplie de solution de javel à 5 %. La seringue est vidée au bout de 15 minutes et les graines sont rincées à l'eau déminéralisée (en aspirant puis relâchant l'eau quelques fois). Après ce rinçage rapide, on laisse les graines dans l'eau déminéralisée durant 2 x 15 minutes, en changeant l'eau à chaque fois, pour assurer l'élimination de l'eau de Javel. Pour l'expérience 7, des piluliers sont utilisés à la place de la seringue, vu le grand nombre de plantes et la complexité du design expérimental. Le pilulier était fermé à l'aide d'une toile de moustiquaire retenue par des élastiques, maintenant méticuleusement la toile contre le pilulier pour qu'aucune graine ne puisse sortir des alvéoles. La solution de javel est déversée directement dans le pilulier, à travers la toile, jusqu'au débordement. Le protocole de rinçage reste le même.

Après désinfection, les graines sont préparées pour être disposées dans des bacs de germination. Sous hotte, du papier filtre stérilisé par autoclave (45 min. à au moins 1013,25 hPa et 120°C) est humidifié grâce à de l'eau déminéralisée et collé sur des plaques de PVC lisse (35

cm x 9 cm). Le papier fait 14 cm de longueur sur 9,5 cm de largeur et deux papiers peuvent aller sur une plaque. Il est prévu que le papier dépasse d'environ 1 cm en bas des plaques. Il est important que les fibres du papier soient positionnées verticalement dans la boîte, dans le sens de la croissance des racines.

Pour la suite, de l'agar chaud est nécessaire pour fixer les graines sur le papier filtre. Pour sa préparation, 1 g d'agar est ajouté à 100 mL d'eau déminéralisée, et le tout est mélangé et mis au micro-ondes jusqu'à ébullition (environ 2 minutes). Les graines sont d'abord simplement posées sur le papier filtre, la fente de la graine contre le papier et la pointe vers le bas, à 1 cm du bord supérieur du papier. Une fois que toutes les graines sont placées sur la plaque, on dépose sur chaque graine une ou deux gouttes d'agar chaud. La goutte placée va refroidir et fixer la graine au papier.

Toujours sous hotte, la plaque (à laquelle est collé le papier filtre avec les graines) est placée verticalement sur le peigne au fond de la boîte de germination (fig. 12). Au fond du bac sont versés 1 à 2 litres d'eau déminéralisée. Comme expliqué précédemment, le papier doit dépasser de maximum 1 cm en bas de la plaque et toucher l'eau du fond du bac pour permettre à l'eau de monter par capillarité jusqu'en haut du papier, où se trouveront les graines. Une fois toutes les plaques disposées dans la boîte, un peigne est placé au-dessus des plaques pour les maintenir bien en place et éviter qu'elles ne s'entrechoquent, puis la boîte est fermée et mise en chambre de germination. La température y est de 15°C constamment et il n'y a pas de lumière, vu que les graines n'en ont pas besoin pour germer.



Figure 12 : Vue latérale des plaques de plastique auxquelles sont collés les papiers filtres. Les plaques reposent sur un peigne tandis que le papier filtre touche le fond pour que l'eau puisse remonter par capillarité et hydrater les graines.

La progression de la germination et le niveau d'eau sont vérifiés tous les jours. Les papiers filtres devraient toujours être en contact avec l'eau. En fonction de la variété mise en germination, il faut attendre 3 à 5 jours avant que la plantule ne soit assez développée que pour

être repiquée dans un support de culture aéroponique sans risque de dessiccation. Généralement, les plantules sont considérées comme assez développées lorsque la graine a germé et que les trois plus grandes racines font minimum 3 cm. Au plus les racines sont longues, au plus les chances de survie lors du transfert dans la plateforme sont hautes. Sur la figure 13, on peut voir qu'une forte diversité existe au niveau de la vitesse de germination et de l'avancement de la croissance. Il est donc préférable d'attendre que toutes les racines aient atteint 2-3 cm avant de transférer les plantules. Laisser plus de temps aux graines pour se développer permet de diminuer considérablement le taux de mortalité des plantules lors du changement d'environnement.



Figure 13 : Vue du haut d'un bac de germination au jour 3 après la mise en germination.

Transfert vers la plateforme

Le transfert entre la boîte de germination et la plateforme peut être chronophage. C'est un moment où les racines de plantules sont extrêmement sensibles à la dessiccation, laquelle impactera fortement leur survie et leur croissance par la suite. Il a été remarqué que le taux de mortalité diminuait fortement si les plantules étaient aspergées d'eau déminéralisée à l'aide d'un brumisateur manuel de manière régulière durant leur transfert. Le problème a été soulevé lors du transfert de l'expérience 2 et cette méthode a donc été utilisée à partir de l'expérience 3.

Une fois que la taille des plantules en boîte de germination est considérée comme suffisante pour leur transfert en aéroponie, elles peuvent être placées dans les petits bacs ou dans RootPhAir. Comme prévu dans le protocole de germination, il y a trop de graines pour le nombre de places dans la plateforme, donc les plantules les plus développées seront transférées, à nouveau pour augmenter leurs chances de survie. Dans le cas des expériences 1 à 6, il a été décidé qu'une seule racine serait gardée pour faciliter l'analyse des images et pour permettre de considérer la croissance totale de la plante à travers la croissance de son unique

racine. Dès lors, toutes les racines autres que la racine séminale ont été excisées à l'aide d'un scalpel ou d'une lame de rasoir au moment du repiquage (et durant l'expérience sauf pour l'expérience 6). Pour l'expérience 7, les racines n'ont pas été coupées, car il a été remarqué que cette opération allongeait le temps de transfert entre bac de germination et plateforme, augmentant le risque de dessiccation. De plus, la plateforme est conçue pour pouvoir repérer les différentes racines, simplifiant l'analyse de données suivant l'expérience.

La plantule est placée dans un bouchon de sphaigne (PeatFoam, 2022) (fig. 14) conçu pour la maintenir dans son support de polystyrène (dénommé « languette » dans la suite du document). Une incision longitudinale est faite sur un des côtés du bouchon jusqu'au centre pour que la plantule puisse y être glissée. La graine est placée dans le bas du bouchon, de manière à ce que les racines sortent directement du bouchon sans devoir se frayer de chemin à travers la mousse. Le bouchon est ensuite glissé dans un trou de la languette (fig. 15), laquelle est placée sur la face supérieure du bac aéronique (fig. 16 et 17). Pour chaque expérience, le jour où les plantules sont transférées dans la plateforme est considéré comme jour 0.

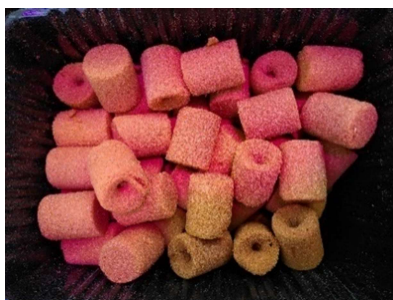


Figure 14 : Bouchons de sphaigne utilisés pour coincer les plantes dans les languettes de polystyrène.



Figure 15 : Languettes de polystyrène trouées utilisées pour maintenir les plantes au-dessus des bacs aéroniques. Elles mesurent 35,5 cm sur 5,5 cm et sont percées de trous de 9 de 2 cm de diamètre écartés de 1,75 cm entre eux.



Figure 16 : Vue en diagonale du haut d'un petit bac aéronique déjà rempli de plantules.



Figure 17 : Vue latérale des petits bacs aéroniques ainsi que du système de gestion (ordinateur + pompes).

Durant l'expérience

Dans la plateforme, de la solution Hewitt (solution nutritive conseillée pour l'orge (annexe 2) est brumisée régulièrement sur les racines des plantules. Quelques jours d'acclimatation sont prévus pour que les plantes acquièrent leur vitesse de croissance de croisière dans leur nouvel environnement. Une fois ces quelques jours passés, le traitement peut être lancé. Seule l'expérience 2 n'a pas eu de période d'acclimatation.

L'application du traitement consiste à ajouter de la gramine et/ou de l'hordénine à la solution nutritive brumisée sur les racines. L'hordénine (VWR, 2022 ; n° H1351 – 5g) et la gramine (Merck, 2022 ; n° G10806 – 25g) sont conservés au frigo (5°C) et ne sont sortis que pour la fabrication des solutions. Lors de leur utilisation, ils sont dissouts dans du DMSO (Merck, 2022 ; n° 276855-1L) à raison de 30 mg/mL.

De cette manière, les produits sont appliqués facilement et de manière constante sans changement de milieu (pH, concentration de la solution nutritive, température de la solution nutritive, etc. restent constants). La gramine et l'hordénine n'étant pas des produits solubles dans l'eau, ils doivent d'abord être dissouts dans du DMSO à raison de 30 mg/mL. C'est cette solution qui est ajoutée à la solution nutritive. Vu la conception du dispositif aéronique, la solution est appliquée à l'ensemble des plantes d'un bac. L'unité expérimentale d'application du traitement est donc le bac. La solution enrichie est laissée en place pendant la durée du traitement.

Au terme du traitement, la solution nutritive contenant le produit est récupérée et conservées au frigo pour une réutilisation ultérieure. La plateforme est ensuite rincée pour éviter toute contamination due à des résidus. Le rinçage consiste à faire passer de l'eau déminéralisée dans le système pendant quelques minutes, puis évacuer l'eau de rinçage et répéter le processus trois à quatre fois. Pour les petits bacs aéroniques, transférer la solution dans des bidons était réalisable sans trop de dispositions préalables. Pour la plateforme RootPhAir, le protocole de rinçage et de récupération de la solution toxique était plus complexe et est disponible en annexe 3. Après le rinçage, une solution nutritive classique est remise dans le système et l'expérience continue pendant quelques heures/jours durant lesquels on peut observer la récupération de la plante après un retour aux conditions contrôles.

Pour chaque expérience, les conditions expérimentales, les ambitions et les points d'attention sont déterminés par les résultats des expériences précédentes. Chaque expérience est construite dans l'idée d'obtenir assez d'informations sur les concentrations de produits, les

durées de traitements et le fonctionnement des plateformes que pour réaliser la dernière expérience, laquelle implique les différentes variétés d'orge, qui sont notre objectif initial. Une expérience demande donc une phase expérimentale et une phase d'analyse de résultats avant de pouvoir passer à la suivante.

Fin de l'expérience

Pour les expériences de phase 1, la principale raison de fin d'expérience était la prolifération des racines secondaires, ce qui rend l'analyse d'images particulièrement chronophage. Il a donc été décidé d'arrêter, plutôt que de passer plus de temps pour obtenir moins de résultats. Ce moment arrivait souvent aux alentours d'une semaine d'expérience.

Pour la phase 2, c'est un facteur matériel qui a imposé les fins d'expérience. Effectivement, pour éviter les problèmes d'humidité et de corrosion, le scanner est disposé à l'extérieur du bac et prend les photos à travers une fenêtre découpée dans la paroi de celui-ci. À cause de cette disposition, les racines dépassant de la fenêtre ne sont plus dans le champ de vision du scanner. L'observation est donc arrêtée lorsque les racines d'intérêt sortent du champ de vision du scanner.

Lorsque l'expérience se finit, les plantes et tout le matériel jetable (e.g. bouchons de sphaigne) sont éliminés dans les poubelles prévues pour les déchets toxiques. Le reste du matériel ayant été en contact avec la solution toxique est d'abord rincé, puis nettoyé au savon et à l'eau chaude entre chaque expérience et après la dernière expérience.

Prise de données

Pour ce qui est de la prise de données, deux protocoles différents ont été adoptés, variant selon la plateforme. Pour la première phase expérimentale, faite sur les petits bacs aéroniques, un dispositif facilitant la prise de mesure a été constitué. Celui-ci était constitué d'un appareil photo (NIKON D3300, 6000 x 4000 pixels), d'un pied pour l'appareil photo et d'une boîte à fond bleu marine (fig. 18, 19 et 20). Cette boîte avait pour fonction de maintenir les languettes durant la prise de photo tout en offrant un contraste permettant de bien distinguer les racines. Le pied d'appareil photo était toujours disposé à la même distance de la boîte pour que la taille des pixels reste constante d'une séquence d'acquisition à l'autre.

La prise de vue dans ce premier dispositif se déroule comme suit. Une languette est délicatement sortie de son bac et placée sur le petit rebord prévu à cet effet dans la boîte à fond bleu. Une fois la photo prise, la languette est remise dans le bac. Il est important de limiter

le temps sans brumisation car la dessiccation peut être très impactante sur la croissance racinaire.



Figure 18 : Vue latérale du dispositif de prises de photos (pied d'appareil + boîte).



Figure 19 : Vue de face du dispositif de prises de photos (pied d'appareil + boîte).



Figure 20 : Vue de face de la languette disposée devant le fond bleu.

Une fois toutes les photos récoltées, elles sont transférées sur un ordinateur et traitées avec SmartRoot, un plugin d'ImageJ (1.53k). Cette extension permet de retracer rapidement les racines sur des photos, tracés sur lesquels se base le programme pour calculer la longueur racinaire. Les données de longueur sont exportées depuis SmartRoot vers une base de données SQLite, à laquelle on accède aisément depuis le logiciel RStudio.

Pour RootPhAir, le processus est plus automatisé, même si la plateforme demande tout de même de la main d'œuvre pour son bon fonctionnement. Les images sont prises automatiquement par un scanner (700 dpi) et sont stockées sur un serveur. Pour chaque image, l'identifiant de la plante, la date et l'heure de prise de vue sont enregistrées dans une base de données SQLite. Une fois que toutes les images sont prises, un programme de la suite AeroScan (logiciel développé au laboratoire) est utilisé pour repérer les pointes de racines sur les photos. La version actuelle d'AeroScan ne permet pas de relier temporellement ces pointes pour avoir la croissance racinaire de toutes les racines de manière automatisée. Dans notre travail, nous avons, pour chaque plante, extrait de la base de données les coordonnées de la racine la plus basse, qui correspond à la première racine séminale et nous avons analysé la série temporelle de ces coordonnées pour estimer sa vitesse de croissance.

Attention, durant les expériences réalisées sur RootPhAir, aucune donnée n'a été récoltée, ceci dans le but d'éviter toute contamination du matériel et tout risque d'exposition à des produits toxiques. Effectivement, les grands bacs restent ouverts pendant les prises de vue, ce qui n'était pas le cas des petits bacs aéroniques. La solution brumisée est donc projetée sur le matériel environnant si la plateforme ne reste pas fermée, ce qui n'est pas envisageable. De plus, les quantités de produits sont autrement plus élevées vu la quantité de solution nutritive nécessaire à faire tourner la plateforme, ce qui augmente considérablement les risques sanitaires. La plateforme est donc arrêtée et fermée pendant les traitements.

d. Design expérimental

Plantes et bacs

Pour les expériences 1 à 5, c'est-à-dire les expériences sur petits bacs aéroniques avec une variété d'orge (RGT Planet), la seule étape de randomisation nécessaire était lors du passage des chambres de germination aux bacs aéroniques. En effet, il a fallu éviter que les graines venant de mêmes plaques soient contiguës ou soient toutes proches du bord. De plus, il fallait essayer de tenir compte de la rapidité avec laquelle les graines étaient transférées dans la plateforme. Effectivement, une fois que la plantule est placée dans un bac, ses racines sont brumisées et la dessiccation est donc évitée. Avant cela, elles restent au contact de l'air libre pendant plusieurs minutes, voir dizaines de minutes, et leur dessiccation peut impacter largement leur taux de survie. Comme expliqué précédemment, pour palier à ce problème, un brumisateur à pompe manuelle a été utilisé à partir de la troisième expérience, et ce problème a donc surtout impacté les deux premières expériences. Lorsqu'une languette contenait moins de plantes que le nombre d'emplacements prévus dedans, les plantes étaient espacées un maximum, que ce soit entre elles ou par rapport au bord du bac.

Dans le cas de l'expérience 6 qui comportait 100 plantes disposées dans un bac de 495 places (99 languettes), il a été décidé de concentrer les plantes sur 20 languettes séparées chacune d'une languette vide. Cette disposition a permis d'avoir des moments de prise de vue proches pour les 100 plantes tout en limitant le risque qu'un trop grand nombre d'entre elles soient affectées par un arrêt inopiné de l'automate, qui peut allonger le temps d'exposition à de l'air sec pour les plantes situées proches de la fenêtre de scan.

Pour l'expérience 7, le but était d'étudier l'hérédité du potentiel phénomène au sein de lignées d'orge. Étant donné le fait que RootPhAir soit constituée de deux bacs, chacun des produits a été attribué à un des bacs. Pour ce qui est des variétés choisies, nous en avons 30 à disposition, y compris RGT Planet, et toutes ont été utilisées. Vu qu'il y avait 30 variétés et 2 bacs séparés, il a fallu faire un design expérimental plus construit. Pour ce faire, un code utilisant R Studio a été utilisé pour randomiser, tout en considérant l'effet de bord, le nombre d'individus par variété, la proximité entre variétés, le nombre de répétition par bac, etc. Le nombre de répétition pour chaque variété était de 14. Il y avait donc 14 blocs de languettes contenant chaque variété. De plus, les deux variétés utilisées comme « témoins » (*RGT Planet* et *Morex*) étaient présentes plusieurs fois par bloc. Elles ont été choisies comme témoins à cause de leur grand stock. Le but de ces témoins était d'avoir une idée de l'homogénéité spatiale obtenue dans la plateforme aéronique, ainsi que des potentiels effets indésirables locaux. Le design expérimental est donc un **plan augmenté en blocs aléatoires complets**. Le fichier indiquant les dispositions de chaque plante dans la plateforme que le code a fourni est disponible dans l'annexe 4.

Traitements et expériences

Durant cette expérience, deux produits ont été testés, et ce à plusieurs concentrations. Pour chaque expérience, les produits étaient attirés à un bac pour éviter tout problème d'addition de produits entre les expériences, malgré les rinçages méticuleux.

Selon les expériences, différentes séquences d'application des produits ont été testées. Comme expliqué précédemment, les six premières expériences étaient préparatoires et permettaient de trouver les conditions parfaites pour l'expérience 7. Le nombre d'expériences n'était pas initialement prévu, mais adapté aux résultats obtenus à chaque fin d'expérience. Pour la première expérience, l'objectif était de prendre en main les petits bacs aéroniques ainsi que la méthode expérimentale, tout en observant la réponse potentielle des racines aux produits. La deuxième expérience s'est basée sur les premiers acquis et a consisté en une variété de combinaison de traitements, avec des plantes passant d'un bac de solution toxique à un bac contrôle et *vice versa*. Il a cependant été remarqué que les réponses étaient fort compliquées à analyser et l'expérience 3 a été prévue de manière plus simple, avec un traitement à partir d'un moment x et jusqu'à la fin. Suite aux résultats, l'expérience 4 a été prévue avec un traitement appliqué jusqu'à ce qu'il y ait une modification significative dans la vitesse de croissance. Après réponse de la croissance racinaire, les produits étaient retirés en

faveur de la solution nutritive. Il a cependant été remarqué que de fortes températures auraient pu induire les résultats, donnant lieu à l'expérience 5, durant laquelle aucun traitement n'a été appliqué. Effectivement, le but était de quantifier le taux de mortalité dû à la chaleur des serres ($\pm 38^{\circ}\text{C}$ durant l'expérience 4), tout en vérifiant que les bacs ne faisaient pas d'effet non plus. Ces cinq premières expériences ont permis de déterminer les conditions expérimentales des deux dernières expériences, effectuées sur RootPhAir. Pour l'expérience 6, le traitement contenant de la gramine a été appliqué 2 fois avec 10 jours d'écart et sur un seul bac de la plateforme, avec une seule variété. L'expérience 6 était la dernière expérience préparatoire, permettant entre autres de prendre la plateforme RootPhAir en main. Seule la gramine a été utilisée pour cette expérience, avec un seul des deux bacs et peu d'individus. Suite à cela, l'expérience 7 a été réalisée sur toutes les variétés d'orges différentes. Les deux produits ont été testés, chacun sur un bac, et les traitements ont été appliqués deux fois en une semaine, séparés de deux jours. À la fin de chaque traitement, la plateforme était également rincée selon le même protocole (annexe 3).

Les concentrations ont varié pour chaque expérience, et sont résumées dans le tableau ci-dessous (tab. 2). Pour les premières expériences, les concentrations utilisées étaient inspirées du mémoire de Renaud Bulpa (R. Bulpa 2022). La suite des expériences a été construite sur les résultats obtenus durant les premières.

Tableau 2 : Récapitulatif des produits, de leurs concentrations et de leurs périodes d'application pour chaque expérience.

Numéro d'expérience	Concentration(s) appliquée	Jour(s) de début de traitement	Durée du traitement
Expérience 1	1 mM	Jour 4	Jusqu'à la fin de l'expérience [Gramine et Hordénine]
Expérience 2	2 mM	Transition entre traitements au jour 4	Dès le premier jour et / ou jusqu'au dernier
Expérience 3	2 mM	Jour 2	Jusqu'à la fin de l'expérience [Gramine et Hordénine]
Expérience 4	2 mM	Jour 2	10 heures [Gramine] 26 heures [Hordénine]
Expérience 5	Pas de produit	/	/
Expérience 6	0,5 mM [Gramine]	Jour 3	6 heures
		Jour 14	6 heures
Expérience 7	0,5 mM [Gramine et Hordénine]	Jour 7	6 heures [Gramine] 22 heures [Hordénine]
	1 mM [Gramine et Hordénine]	Jour 9	6 heures [Gramine] 22 heures [Hordénine]

e. Méthodes d'analyses statistiques

Durant ce mémoire, un véritable voyage de réflexion a été effectué pour en arriver aux modèles utilisés pour l'analyse des données. Par souci de clarté et d'accessibilité, ce processus va être présenté.

Le protocole d'observation pour l'ensemble des expériences a fourni, pour chaque plante, une série temporelle de longueur racinaire. Étant donné les hypothèses posées concernant la vitesse d'élongation avant et après un événement (le traitement), le choix d'un modèle de régression linéaire à double tendance a été fait (Draper & Smith, 1998). Selon ce modèle, la série temporelle est divisée en deux parties (avant et après le traitement) et deux demi-droites de régression sont ajustées au jeu de données. Selon la formulation du modèle, on peut imposer que l'intersection de ces deux demi-droites se situe bien au moment séparant les deux parties de la séquence, c'est-à-dire le début du traitement.

Pour appliquer ce modèle, il faut créer un axe de temps pour chaque phase de l'expérience (avant et après le traitement) et faire coïncider le zéro de ces axes avec le traitement. Le but de cette manœuvre est d'avoir l'intersection des axes de temps avec l'axe y au moment du traitement et non au début de l'expérience. Le principe plus détaillé sera développé ci-dessous. Sur la figure 21, on peut voir des graphiques schématisant les différentes manipulations de données nous ayant permis de réaliser cette analyse.

Le but de l'analyse statistique était de confirmer ou d'exclure un potentiel effet significatif du traitement sur la croissance racinaire de l'orge, mais également de voir s'il y avait présence d'une période de récupération. Dans ce contexte précis, nous considérons que les plantes traversent trois phases : avant le traitement, pendant la phase de récupération et après la phase de récupération. Nous définissons la phase de récupération comme la période de temps après le traitement pendant laquelle la croissance est négligeable. La comparaison des pentes des demi-droites avant et après le traitement (première et troisième phases) permet d'évaluer l'effet des produits sur la vitesse de croissance, tandis que la comparaison de leurs intercepts avec l'axe des y permet de vérifier la présence d'une phase intermédiaire de récupération.

La figure 21 illustre cette construction à l'aide d'un exemple fictif. Sur le graphique A, la longueur racinaire est représentée en fonction du temps. Le début du traitement est désigné

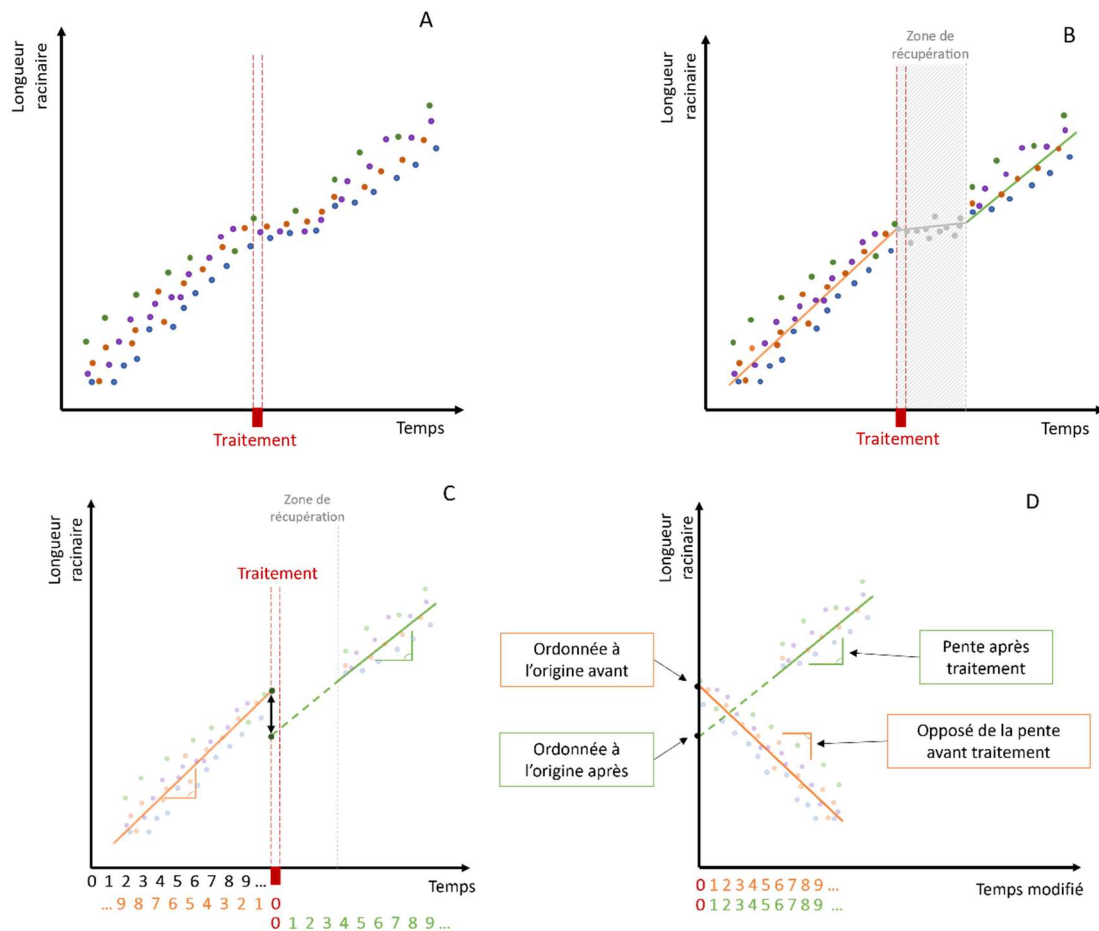


Figure 21 : Différentes phases de modification des données pour appliquer le modèle de régression linéaire à double tendance. La figure A représente les données sans modification hors élimination des outliers. La figure B représente les régressions linéaires possibles pour chaque partie de l'expérience (avant traitement, pendant la période de récupération et après le traitement). La droite orange représente la régression des données avant traitement tandis que la droite verte représente la régression des données après traitement. Ce code couleur sera utilisé pour toutes les droites de régression. La figure C représente les échelles de temps qui seront associées aux différentes droites de régression. La figure D est une représentation de la modification de l'échelle temporelle utilisée pour calculer les différences d'ordonnées à l'origine des droites de régression avant/après.

par la première ligne de pointillés rouges et la fin du traitement est désignée par la deuxième ligne de pointillés rouges. Dans l'ensemble, la pente de croissance est relativement constante avant traitement, suivie d'un ralentissement de croissance juste après le traitement. Après cette période de baisse de croissance, la pente augmente jusqu'à revenir à ce qu'elle était avant le traitement. Ce graphique représente donc ce à quoi nous nous attendions initialement, mais des résultats aussi clairs n'ont pas toujours été observés et le but ici est bien de développer le modèle statistique.

Pour éviter de confondre la période de récupération et la pente après le traitement, une zone de récupération a été déterminée. La méthode utilisée pour délimiter la fin de la phase de récupération a été ajustée au fil des expériences. La zone de récupération est visible sur la figure 21B, où trois régressions sont présentées (deux demi-droites et un segment) pour afficher notre modèle conceptuel.

Les seules données recherchées sont la pente avant traitement, la pente après traitement et les intersections de ces deux droites avec l'axe vertical au moment du début de traitement. Pour cela, on efface les données de la zone de récupération et on revient à un modèle à deux phases, ce qui est visible en figure 21C. On va d'abord créer deux axes de temps (un pour chaque phase). Pour ce faire, on déplace d'abord le 0 de l'échelle *temps* au moment du début du traitement. Ensuite, on crée un axe spécifique à chaque phase. Comme il est visible sur la figure, les directions de ces deux axes sont opposées. L'échelle du moment *Avant* augmente vers la gauche tandis que l'échelle du moment *Après* fait l'inverse et augmente vers la droite.

Si on représente les droites de régression en faisant coïncider leurs axes temporels modifiés, on obtient un unique axe temporel et deux droites croisant l'axe y au niveau où elles auraient croisé l'axe y du début de traitement, ce qui est visible sur la figure 21D. Grâce à cette manipulation, on peut utiliser le modèle GLM d'analyse de covariance (un ou plusieurs facteurs discrets (phase, traitement, variété) et un facteur continu, avec interaction) pour estimer en une fois les pentes et intercepts. En complément de cette analyse de covariance, on peut alors tester toute hypothèse pouvant se formaliser comme une combinaison linéaire de ces pentes et intercepts. Dans notre cas, nous construirons des combinaisons linéaires qui permettent de comparer les pentes et de comparer les intercepts des différentes phases pour un même traitement, mais également pour comparer les variations entre les pentes avant-après pour différents traitements.

Le modèle décrit correspond à l'équation suivante :

$$Y_{ijk} = (\beta_0 + \alpha_i) + (\beta_{1j} + \gamma_{ij})x + \epsilon_{ijk}$$

Avec :

- i = traitement (ou bac ou variété d'orge)
- j = phase (avant / après application du produit)
- k = observation (effet de l'individu)

Le premier groupement de termes $(\beta_0 + \alpha_i)$ représente la valeur de l'ordonnée à l'origine de chaque traitement, β_0 étant la valeur moyenne et α_i la différence avec chaque traitement. Le deuxième groupe $(\beta_{1j} + \gamma_{ij})x$ correspond à l'effet du temps pour chaque phase et en fonction du traitement. Le terme β_{1j} représente la pente globale et γ_{ij} représente la différence pour chaque traitement à chaque moment. La variable x représente la valeur absolue du temps relatif au moment d'application du traitement. Enfin, ϵ_{ijk} représente le résidu dépendant du

traitement, de la phase et de la variation individuelle. Ce modèle sera utilisé pour chaque expérience. Pour les expériences comparant les 2 molécules, le facteur *traitement* sera utilisé. Pour celle comparant les 3 bacs, i représentera les *bacs*. Pour la dernière expérience, comparant les variétés au sein d'un traitement, ce sera le facteur *variété* qui sera utilisé. Pour cette dernière expérience, les deux produits ne seront pas comparés entre eux étant donné le manque de contrôle. Il n'y aura donc pas besoin d'un facteur *traitement* pour cette expérience. Pour la réalisation de ce modèle, la version 4.2.1 de R a été utilisée, avec la version 2022.07.2+576 de l'interface RStudio.

Pour mettre ce modèle en pratique, des modifications ont dû être effectuées au sein de la table de données et sont visibles dans le tableau 3. Le tableau de gauche représente les données obtenues en fin d'expérience, avec une colonne pour l'identifiant de la plante (« ID de la plante »), une colonne pour le temps (« Temps réel ») et une colonne longueur racinaire (« Longueur (cm) »). Le tableau de droite représente les données modifiées pour le modèle et ne diffère du premier que par deux colonnes : une colonne « Moment » et une colonne « Temps modifié ». La colonne « Moment » correspond à un facteur comptant 3 niveaux : « Avant », « Traitement » et « Après ». Ces trois facteurs correspondent au moment de l'expérience auquel appartient la valeur, c'est-à-dire avant le traitement, au moment du début du traitement ou après le traitement. Dans notre exemple, la valeur « 4 » de « Temps réel » correspond au début du traitement et est le moment charnière, valant 0 dans la colonne « Temps modifié ». On va ensuite se focaliser sur un niveau du facteur « Moment » à la fois, à commencer par « Avant ». La formule appliquée sur le facteur « Temps réel » pour créer le

Tableau 3 : Modifications apportées au tableau de données initial permettant de créer une échelle temporelle pour faire une régression linéaire à double tendance. La valeur en gras de la colonne « Calcul » correspond au temps charnière. Les couleurs (orange, vert et rouge) correspondent aux différents niveaux du facteur « Moment ».

ID de la plante	Temps réel	Longueur (cm)	ID de la plante	Temps réel	Longueur (cm)	Moment	Calcul	Temps modifié
1	1	1,5	1	1	1,5	Avant	4 - 1	3
1	2	2,7	1	2	2,7	Avant	4 - 2	2
1	3	3,9	1	3	3,9	Avant	4 - 3	1
1	4	5,1	1	4	5,1	Traitement	/	0
1	5	6,3	1	5	6,3	Après	5 - 4	1
1	6	7,5	1	6	7,5	Après	6 - 4	2
1	7	8,7	1	7	8,7	Après	7 - 4	3
1	8	9,9	1	8	9,9	Après	8 - 4	4
2	1	1,4	2	1	1,4	Avant	4 - 1	3
...

facteur « Temps modifié » correspond à la soustraction du temps réel au temps charnière, et ce pour chaque valeur correspondant au moment « Avant ». La colonne « Calcul » montre cette formule. Pour le moment « Après », le calcul inverse a été fait : c'est le temps charnière qui est soustrait au temps réel. On obtient donc une échelle de temps dont la valeur équivaut à 0 au début du traitement tandis qu'elle augmente des deux côtés de l'axe à mesure qu'on s'éloigne du zéro, comme il était visible sur la figure 21C. Lorsqu'on fait un graphique de la longueur en fonction du temps modifié, on obtient la figure 21D.

La méthode développée jusqu'ici nous permet de vérifier quelles variétés ont ou non une vitesse de croissance racinaire sensible aux produits. Cependant, elle ne nous permet pas de vérifier si cette réaction est sous contrôle génétique. Un dernier modèle dont on fera l'usage durant ce mémoire est celui permettant de calculer le pourcentage du contrôle génétique impliqué dans la réponse des variétés d'orge face aux produits. Dans toute population, les phénotypes observés sont le résultat de deux composantes. D'une part, ils sont dû à la génétique de la population, et d'autre part, ils sont dû à l'environnement et l'impact qu'il a sur chaque individu en particulier. Dans ce cas-ci, on peut trouver la partie du phénotype étant sous contrôle génétique pour chaque situation en particulier, c'est-à-dire à chaque application de produit. Une valeur assez élevée pour cette variable indiquerait un haut contrôle génétique de la réponse à l'application des produits, ce que nous recherchons. Une valeur faible indiquerait peu de contrôle génétique, et donc peu de différence entre variétés.

Pour calculer ce pourcentage, on réalise d'abord un modèle mixte où l'effet plante est aléatoire et hiérarchisé selon la variété. Ce modèle nous donne la variance intra-variété (la variance entre les plantes d'une même variété) et la variance inter-variétés (variance entre les variétés pour une concentration donnée d'un produit). Ensuite, on peut utiliser la formule suivante pour calculer le pourcentage de réponse contrôlé génétiquement pour chaque concentration de produit :

$$H^2 = \frac{V_g}{\left(V_g + \frac{V_e}{n}\right)}$$

Avec :

H^2 = l'héritabilité au sein de la variété (ou contrôle génétique, dans ce cas)

V_g = la variance génotypique (ou variance inter-variétés)

V_e = la variation résiduelle (ou variance intra-variété)

n = le nombre moyen de plantes par variété

Le pourcentage de contrôle environnemental correspond à $1 - H^2$. L'héritabilité donne donc une idée du contrôle génétique impliqué dans le phénomène observé à chaque application de traitement. Cette équation sera utilisée pour calculer le contrôle génétique des variétés utilisées durant l'expérience 7 pour chaque concentration et chaque produit testés.

6. Résultats

Étant donné la chaleur présente dans les serres durant la phase expérimentale, un grand taux de mortalité a pu être observé, résultant en un nombre parfois important de plantes pour lesquelles la vitesse de croissance de la racine séminale était de 0 avant le traitement ou en début d'expérience (36 premières heures). Ces plantes ont été considérées comme outliers et n'apparaissent donc pas dans les graphiques (sauf contre-indication).

a. Expérience 1 : prise en main des petits bacs aéronomiques

Le but de la première expérience était d'observer l'impact des produits sur la croissance racinaire. Il était aussi de prendre en main le matériel, le protocole et les installations, et de réaliser toute l'expérience sans encombre.

Durant l'expérience, une solution nutritive implémentée de gramine à 1 mM a remplacé la solution nutritive classique à partir de l'heure 36 après le début de l'expérience jusqu'à la fin de l'expérience. La concentration a été choisie en fonction des résultats que Renaud Bulpa avait obtenus durant son mémoire. Les mesures de longueur racinaire obtenues durant l'expérience sont visibles sur la figure 22. Il est important de savoir que l'échelle de ces données a été corrigée à certain niveaux, car des variations importantes et incohérentes apparaissaient à plusieurs moments de l'expérience (baisse de toutes les valeurs, pics inattendus, etc.). On peut voir que la correction n'est pas parfaite étant donné le plateau restant mais elle permet déjà une vision globale du graphique.

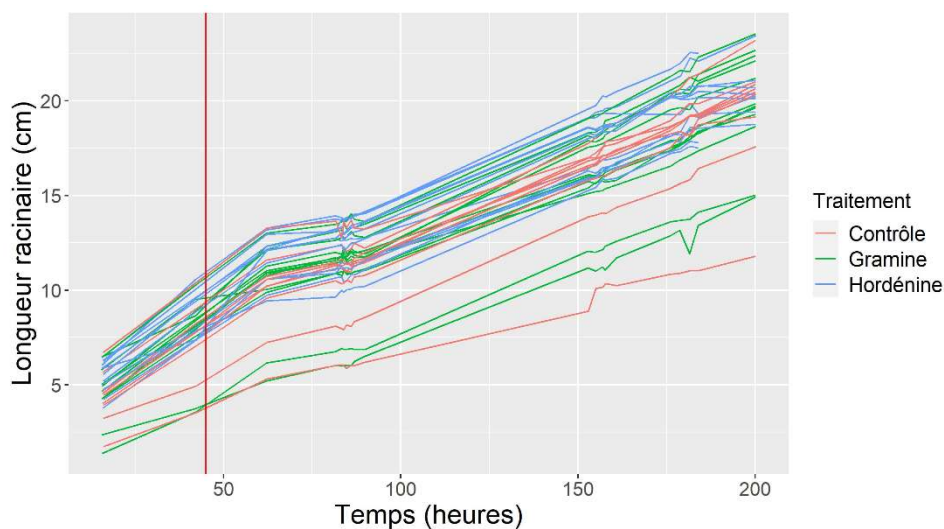


Figure 22 : Évolution de la longueur de la racine séminale en fonction du temps, et ce pour chaque plante présente dans l'expérience. Les couleurs des lignes se réfèrent aux traitements tandis que les lignes elles-mêmes relient les données d'un individu. La ligne rouge verticale correspond au temps d'ajouté du traitement.

Sur cette figure, on peut voir que plusieurs problèmes ont eu lieu au cours de l'expérience. En effet, aux alentours de l'heure 75, un palier est visible parmi toutes les données mais ne correspond à aucun événement. L'hypothèse qui nous paraît la plus plausible est que la distance entre l'appareil photo et la boîte bleue a été modifiée à ce moment-là. La distance entre l'appareil et les racines aurait donc été modifiée et toutes les mesures de longueur racinaire prises à partir de ce moment-là auraient été impactées. N'ayant pas de repère d'échelle commune aux photos, il est difficile de corriger ces données.

Outre ce problème, on constate aussi certains mouvements erratiques, comme par exemple une racine perdant 3 centimètres puis en gagnant 4 à la mesure suivante. Il est possible que certaines photos aient été mal analysées via SmartRoot ou que les racines soient restées collées à la paroi du fond du dispositif de photos, raccourcissant leur longueur sur l'image analysée. Idéalement, ces erreurs doivent être retirées lors des manipulations de données, mais sélectionner manuellement les points problématiques pour les retirer est assez chronophage. De plus, l'analyse des images n'est pas toujours le problème, cas dans lequel on ne sait pas expliquer la variation de taille.

En ce qui concerne l'effet de la gramine et l'hordénine par rapport à ce qui était attendu, les résultats ne sont pas concluants. Initialement, les expériences de Renaud Bulpa avaient montré que, pour une concentration de 1 mM à température ambiante, l'effet était net et néfaste. Ici, les traitements ne sont pas nettement plus bas que le contrôle à la fin de l'expérience. La baisse de croissance attendue n'est donc pas observée. Il est à noter que, lors des expériences menées par Renaud Bulpa, un effet bénéfique a été remarqué à des concentrations plus faibles et dans certaines conditions. Il serait éventuellement possible que l'aéroponie change les conditions expérimentales, et que ce changement soit tel que cet effet bénéfique se retrouve à 1 mM. Dans tous les cas, des données plus robustes et sans perturbation seraient nécessaires pour tester cet effet plus amplement.

Étant donné les soucis rencontrés, il a été décidé que cette expérience resterait une expérience préliminaire et que les données ne seraient pas analysées à l'aide d'un modèle statistique. En revanche, plusieurs éléments ont été retenus comme méritant une attention particulière, comme la disposition du matériel de prise de vue, la verticalité des racines lors de la prise de photo, ou encore l'importance d'une bonne préparation dans ce genre d'expérience. Un autre point important est la manipulation méticuleuse des languettes supportant les plantes

lors de déplacements. Durant les expériences, il est arrivé que des languettes tombent, que les racines soient cognées sur des surfaces ou encore que les racines restent collées ensemble lors de leur remise en bac, modifiant leur environnement direct jusqu'à la prochaine mesure. À cause de ces mauvaises manipulations, un certain taux de mort racinaire est observable, tout comme une possibilité de déplacement du bouchon de sphaigne, modifiant au passage la taille racinaire d'un ou deux centimètres. Ces éléments peuvent créer des variations dans les résultats et sont à éviter à tout prix.

b. Expérience 2 : période de récupération et impact des produits

Lors de la deuxième expérience, l'objectif était de caractériser l'influence de la gramine et de l'hordénine en aéroponie dans deux scénarios précis : un scénario où la plante est exposée au traitement dès le début de sa croissance puis en est retirée et un scénario où la plante est exposée au traitement après un certain temps. Lorsque les produits sont appliqués dès le début puis retirés au bout de quelques jours, le but est de caractériser la période de récupération de la croissance racinaire (lorsque les plantes sortent du produit). Dans le cas où les plantes sont exposées au traitement après quelques jours, le but est de voir l'impact direct que les produits ont sur une croissance « normale ». Trois témoins ont été mis en place. Un lot de plantes est resté durant toute l'expérience dans une solution nutritive (contrôle). Deux autres lots de plantes sont restés toute la durée de l'expérience dans les deux traitements et portent chacun le nom du produit respectif (gramine et hordénine).

Pour réaliser l'expérience, trois bacs d'aéroponie ont été mis en place contenant respectivement de la solution nutritive implémentée de gramine à 2 mM, de la solution nutritive implémentée d'hordénine à 2 mM, ou une solution nutritive témoin. Les concentrations utilisées ont été sélectionnées en fonction des critères de sélection initiaux et du manque de résultat marquant de la première expérience. Les plantes ont été réparties dans les bacs et, à l'heure 58, les languettes appropriées ont été changées de bacs. Les languettes avaient trois possibilités : passer de contrôle à un traitement, passer d'un traitement au contrôle, ou rester dans le même bac. Les noms des traitements indiquent les scénarios appliqués. Ainsi, « Contrôle_Gramine » correspond aux plantes passées du bac « contrôle » au bac « gramine » à l'heure 58 (ligne rouge verticale). Les noms simples correspondent aux plantes restées toute l'expérience dans le même bac.

La figure 23 représente la longueur racinaire au cours du temps. La présenter a pour but de montrer les variations possibles au sein des groupes, y compris celui du contrôle. On remarque cependant que la variabilité des données est moindre avant le temps de changement de bacs alors qu'elle augmente considérablement après. La figure 24 présente les mêmes résultats, mais classés par combinaison de traitement afin de mieux distinguer l'effet attendu à chacune de ces combinaisons. Sur les graphiques de la figure 24, la température de la serre a été ajoutée parce que nous avons remarqué la possibilité qu'elle soit un facteur d'influence.

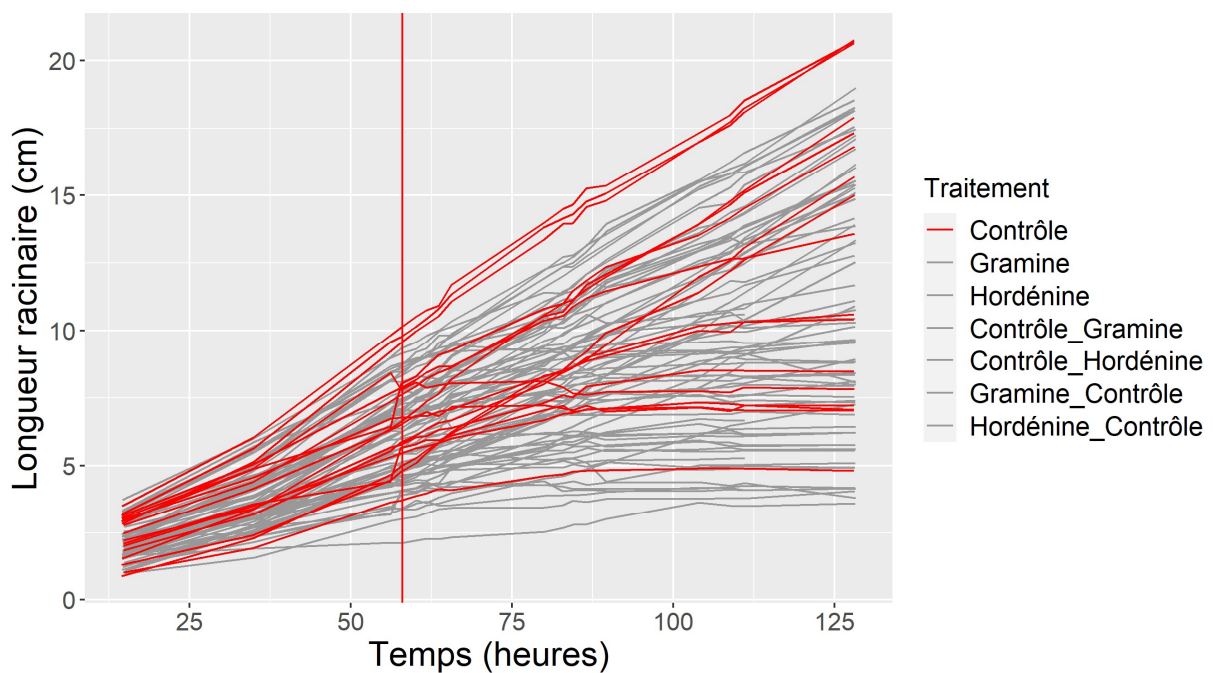


Figure 23 : Évolution de la longueur racinaire en fonction du temps et de la combinaison de traitements. La ligne rouge verticale représente le moment de passage entre les différents traitements/bacs (58^{ème} heure). La légende affiche les différentes combinaisons testées. Étant donné le nombre de combinaisons testées, seul le contrôle est coloré, ceci pour mieux voir sa répartition.

L'observation première qui peut être faite sur ces données est une grande variabilité au sein de certains traitements, malgré le fait que les plantes sont dans les mêmes conditions de température et d'humidité. De plus, les plantes cultivées pour cette expérience ont le même génotype et devraient donc théoriquement afficher la même sensibilité aux produits, ce qui n'est pas le cas. On observe aussi une tendance générale à la baisse de croissance racinaire après le temps charnière. Il est important de noter que cette baisse ne s'applique pas à toutes les plantes des différents traitements mais bien uniquement à certaines plantes dans chaque traitement. On peut aussi observer quelques mouvements erratiques comme dans les résultats de la première expérience, même si ceux-ci sont moins présents.

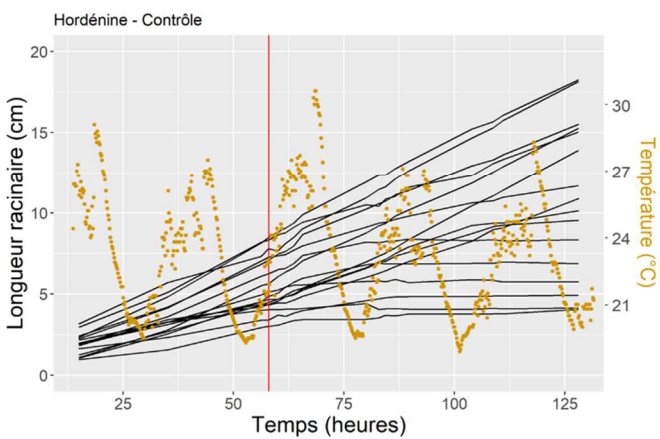
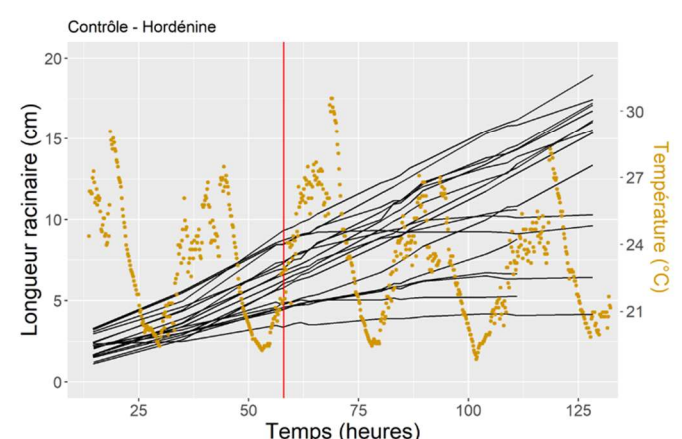
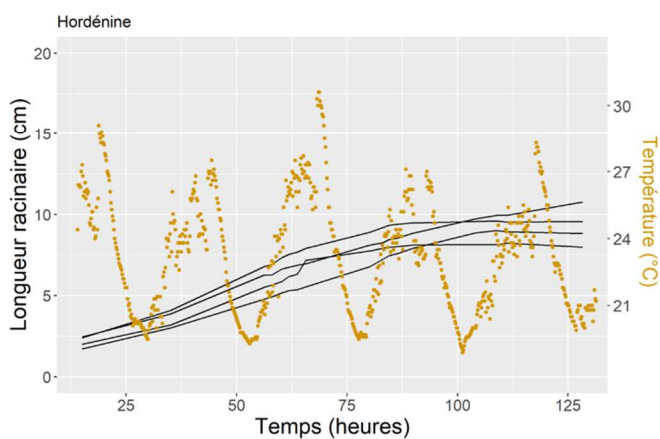
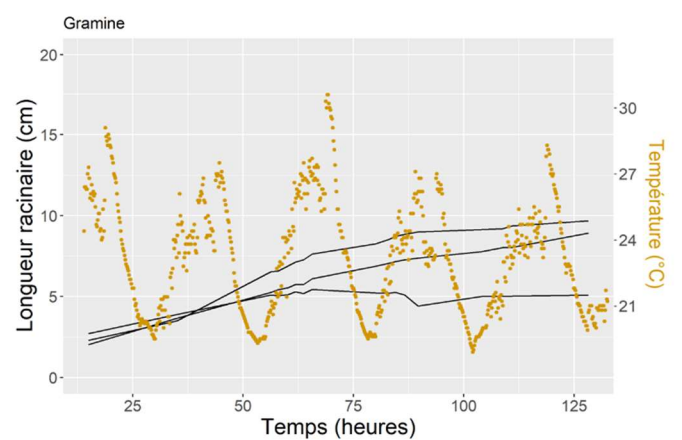
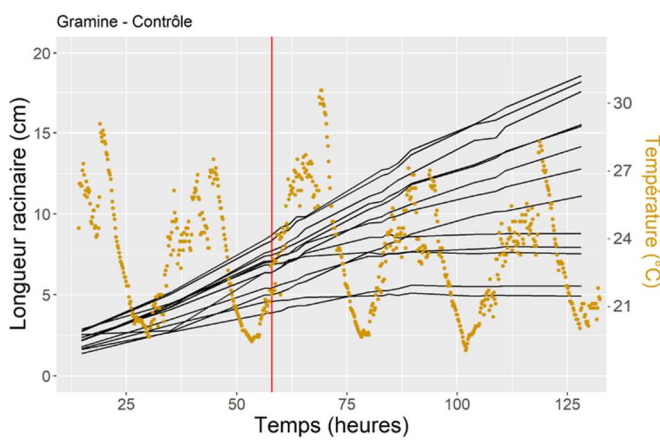
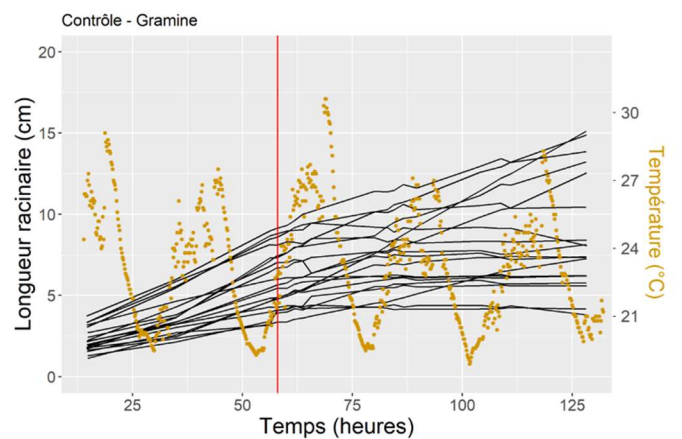
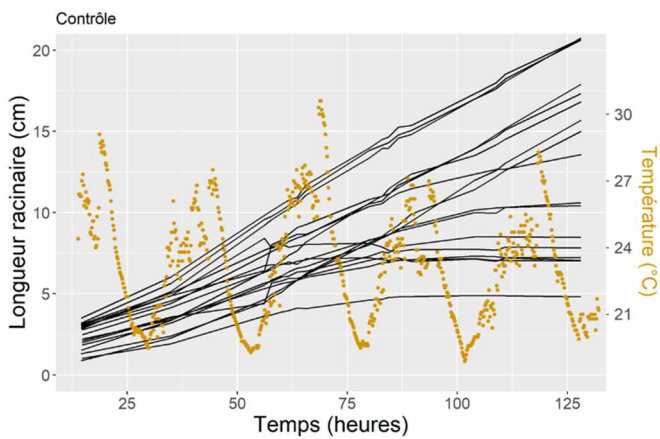


Figure 24 : Combinaison de l'évolution de la longueur racinaire au cours du temps selon les combinaisons de traitements et de la température de la serre durant l'expérience. Les lignes noires représentent les mesures obtenues pour chaque plante tandis que les points ocres représentent les mesures de température. L'échelle des températures est à droite tandis que l'échelle des longueurs racinaire est à gauche des graphiques. La ligne rouge verticale représente le moment du changement de traitement.

Concernant les points de température, le cycle journalier se remarque assez fort, malgré un certain nombre de variations matinales. On peut aussi remarquer que les températures dépassent 30 °C au jour 3, aux alentours de l'heure 65. Pour le reste de ce mémoire, ce type de montée de chaleur dépassant distinctement les températures maximales des autres jours sera appelé un pic de température. Il est important de noter que le pic de chaleur visible ici est très proche du moment où les plantes changent éventuellement de traitement.

Globalement, l'effet observé n'est pas toujours celui attendu. Initialement, un impact assez clair des produits était attendu, influençant négativement la vitesse de croissance lors de leur application. La vitesse de croissance des plantes sortant des traitements était aussi censée augmenter. Sur les graphiques, on peut voir que la vitesse de croissance initiale paraît similaire dans la plupart des cas, hormis pour les plantes étant restées tout le temps dans la gramine. Pour la suite, on observe parfois un ralentissement de croissance lorsque les plantes sont passées du contrôle à un traitement, avec un certain taux de mortalité. Cet effet est particulièrement visible pour le groupe « Contrôle – Gramine », correspondant bien à ce qui était attendu. Cependant, l'aspect global du graphique « contrôle » ressemble beaucoup à l'aspect global d'autres graphiques, ce qui n'est pas censé être le cas. De plus, le taux de mortalité rencontré dans ce groupe est assez surprenant.

Pour les plantes étant restées dans leur bac respectif durant toute l'expérience, les résultats sont plus marqués. Pour les bacs de gramine et d'hordénine, les plantes n'ont pas atteint la moitié de la croissance affichée par le bac contrôle. Cependant, le bac contrôle affiche une certaine mortalité malgré son absence de traitement, indiquant une certaine variabilité possible sans effet du traitement. Attention, il est important de noter que les groupes de traitement constant (gramine et hordénine) contenaient uniquement une languette, donc 5 plantes, à cause d'un aspect matériel. Comme dit précédemment, il est arrivé que les languettes tombent ou que les racines soient cognées. Il est donc possible qu'un effet d'observateur soit présent ici et que les seules languettes de plantes étant restées dans les bacs de traitements ne représentent pas un échantillon représentatif de la réalité.

Pour les plantes sortant de traitement pour aller dans le contrôle, on peut observer une certaine continuité de la croissance racinaire mais sans accélération de croissance notable et également avec un taux de mortalité. Si la croissance a éventuellement baissé, elle ne réaugmente pas après le traitement. La période de récupération n'est pas aussi claire qu'attendue et la vitesse de croissance racinaire n'est pas impactée de la manière anticipée.

Dans l'ensemble, l'expérience révèle surtout une très forte variabilité de croissance racinaire, avec beaucoup de racines ne poussant plus car l'apex de la racine est mort. De plus, le contrôle affiche une haute variabilité, comme certains groupes (« Gramine – Contrôle », etc.). En se basant sur le fait que la croissance racinaire de l'orge observée en aéroponie est normalement assez linéaire, on peut être amené à penser qu'un autre facteur influence également les courbes de croissance, ce qui sera discuté après l'analyse.

Comme expliqué dans la partie *Méthode d'analyses statistiques*, le modèle utilisé est un modèle linéaire comparant les pentes des différents groupes entre elles pour le moment avant et après changement de bac (et donc de traitement). Les résultats sont donc répartis entre les données prises avant ce changement et celles prises après. Pour le groupe « avant changement », aucune p-valeur est inférieure à 5 %, indiquant une absence de différence de pente entre les différents traitements. Il est important de noter qu'avant traitement, les bacs ont été considérés comme unités de comparaison, et non les combinaisons de traitements. Le modèle indique donc qu'il n'y a pas de différence de pente significative entre les trois bacs, que ce soit au niveau de l'intersection avec l'axe y ou la pente moyenne par traitement. Les traitements à l'hordénine et la gramine ne semblent donc pas faire effet durant cette première partie.

Pour les résultats de la partie « après changement », les choses sont un peu différentes. Les plantes considérées comme mortes ont été retirées de l'analyse pour ne pas fausser la réponse des plantes vivantes. De plus, un taux important de mortalité était visible dans tous les traitements. Après analyse, les intersections des droites de régression avec l'axe y (l'axe y étant le moment du changement dans ce cas-ci) ne sont pas significativement différentes les unes des autres. En revanche, la pente du groupe gramine est significativement différente des autres pentes (p-val = 0,047). L'effet perçu sur ce groupe est donc ressenti après le changement de bac. En revanche, l'hordénine ne semble pas impacter la pente de la croissance racinaire de ses groupes après changement de traitement.

Comme évoqué précédemment, un autre facteur aurait pu être à l'origine de certaines variations : la température. En été, les serres de l'UCLouvain atteignent des températures assez hautes. Combinées à la brumisation, ces températures résultent en une atmosphère très lourde et chaude. L'orge étant une céréale ne supportant pas très bien les hautes températures, il est logique qu'un effet se soit fait ressentir. Comme dit précédemment, sur les graphiques comprenant la température, on peut voir qu'un pic de température a lieu aux alentours de l'heure 65, juste après le traitement. Il est à noter que la température n'était pas censée être un facteur pris en compte dans cette expérience, mais qu'après observation des corrélations, nous avons trouvé important de l'ajouter. La température des serres est enregistrée continuellement, ce qui a permis cette observation. Après l'analyse des résultats et l'observation d'une potentielle corrélation entre l'environnement (température, etc.) et les courbes de croissances, il a été décidé d'ajouter l'expérience 5 à la liste prévue. Le but était de confirmer que les effets visibles n'étaient pas uniquement dus à la température mais également aux produits.

Un dernier élément est le fait que le DMSO n'avait pas été utilisé pour les deux premières expériences. C'est via une discussion entre collègues qu'il a été pointé que l'ajout du DMSO pourrait aider à souligner l'impact des produits sur les plantes. Il a donc été convenu d'en ajouter pour les expériences suivantes, en dissolvant les produits dedans avant de les ajouter à la solution nutritive.

c. Expérience 3 : clarification de l'impact des produits

Le but de cette expérience était de voir si l'absence de dilution de la gramine et de l'hordénine dans le DMSO pourrait avoir contribué à l'absence de réponse distincte. En plus de cela, l'objectif était d'avoir une vision claire de l'impact des produits sur la vitesse de croissance racinaire de l'orge. Pour simplifier l'analyse de données, une seule application de traitement a été effectuée. Un traitement a donc été appliqué à partir de l'heure 35 et jusqu'à la fin de l'expérience. Comme avant, chaque traitement a été assigné à un bac (le même que lors de l'expérience 1 et 2). Le produit a d'abord été dissout dans le DMSO puis ajouté dans la solution nutritive au début du traitement, pour arriver à une concentration de 2 mM de produit par solution.

L'évolution de la croissance racinaire en fonction du temps et du traitement est disponible sur la figure 25. Les plantes mortes dès le début (avant traitement) ont été retirées. Sur cette figure, la différence entre les traitements est déjà plus distincte. Avant le traitement, peu de différences peut être décelée entre les groupes. Après le début du traitement, le contrôle a une meilleure croissance que l'hordénine, elle-même ayant une meilleure croissance que la gramine. À la fin de l'expérience, toutes les plantes faisant partie du traitement à la gramine ont une croissance racinaire nulle et sont donc probablement mortes. Pour le traitement à l'hordénine, on remarque encore une croissance racinaire nette chez beaucoup de plantes, mais un certain taux de mortalité est également visible.

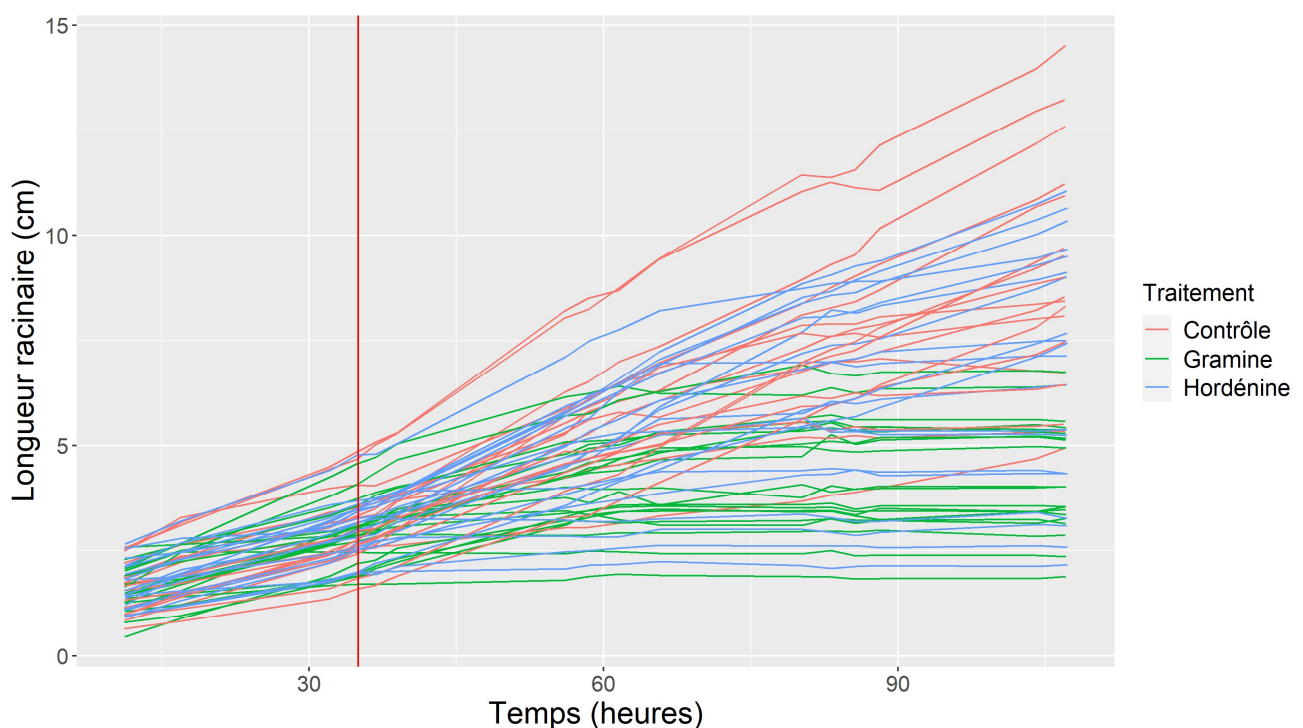


Figure 25 : Évolution de la longueur racinaire au cours du temps et selon le produit. La ligne rouge verticale indique le début du traitement, lequel se finit en fin d'expérience. La couleur des lignes correspond au traitement appliqué.

Les mêmes données ont été remodelées pour pouvoir observer la vitesse de croissance instantanée selon le traitement et le moment de la mesure (avant ou après traitement) et sont visibles sur la figure 26. Pour trouver la vitesse instantanée, le delta de taille entre deux mesures a été divisé par la variation de temps entre les deux mesures pour chaque donnée, puis mis en moyenne par traitement selon deux groupes : avant et après le début du traitement. La première donnée de vitesse instantanée (0 vu qu'il n'y a pas de donnée précédente à soustraire) a été retirée pour chaque plante. Les données calculées ont été compilées en boxplots pour voir l'impact que le traitement a sur la vitesse.

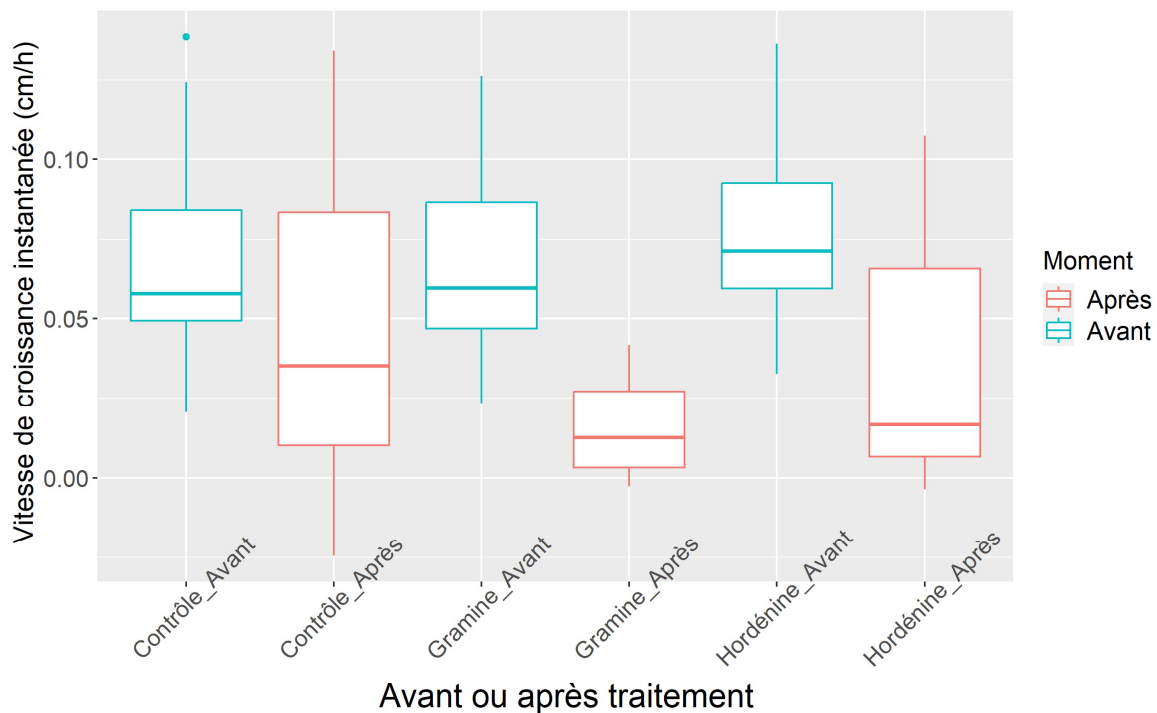


Figure 26 : Vitesse de croissance instantanée selon le moment (avant ou après début du traitement) et selon le produit. Il y a donc comparaison des vitesses de croissance instantanées pour chaque bac avant et après ajout des produits. Les boxplots « ...- Avant » (bleus) subissent donc tous le même traitement au moment où la vitesse est calculée., c'est-à-dire de la solution nutritive seule.

Au sein des traitements, on peut observer une nette différence de vitesse instantanée avant et après le traitement. Cependant, une différence est également visible chez le contrôle, même si pas aussi marquée.

Le modèle utilisé pour l'analyse de ces données est un modèle linéaire à double tendance où on teste plusieurs hypothèses, chacune se référant à un traitement. On applique donc le modèle à un jeu de données pour chaque traitement, en se demandant si la pente est différente après le traitement par rapport à la pente avant le traitement. Seul le traitement à la gramine a une p-valeur significative ($p\text{-val} = 0,001$), donc une pente plus faible après son traitement. La figure 25 montrait bien cette forte baisse de pente au sein du traitement à la gramine. Elle montrait également un certain taux de mortalité au sein du traitement à l'hordénine, ce qui ne semble pas affecter outre mesure la pente globale du groupe. La gramine a donc l'effet attendu, mais pas l'hordénine, laquelle a obtenu une p-valeur de 0,35, tandis que le contrôle a une p-valeur de 0,44.

Pour les expériences précédentes, la température a été repérée comme facteur potentiellement influençant. Pour cette expérience, il manque les données de température des deux premiers jours de l'expérience, à savoir le 11 et le 12 juillet. En revanche, il y a eu un pic de chaleur ($\pm 33^\circ\text{C}$) le 13 juillet (heure 48), puis les températures sont redescendues pour le

reste de l'expérience ($< 30^{\circ}\text{C}$). Il serait donc possible qu'il y ait eu influence de la température sur les données, mais cela n'explique pas pourquoi toutes les données n'ont pas été affectées de la même manière par cette vague de chaleur. En effet, les trois bacs étaient dans la même serre, au même endroit, avec le même degré d'humidité et la même température ambiante. Le pic de température à l'heure 48 peut être responsable d'un effet global, mais pas des effets variables entre les différents traitements. Une dernière possibilité serait l'agissement combiné de la gramine et de la chaleur, expliquant pourquoi seulement ce traitement-là montre un tel taux de mortalité. Pour confirmer une quelconque hypothèse, il faudrait une expérience supplémentaire.

Globalement, plusieurs aspects sont à retenir de cette expérience. Tout d'abord, la gramine peut avoir un effet plus marqué que l'hordénine à une concentration de 2 mM en aéroponie. De plus, cet effet peut se manifester par un haut taux de mortalité, et non juste une baisse de croissance. Enfin, la température pourrait être un facteur impactant en combinaison avec les traitements. Deux éléments seraient donc à vérifier : est-ce que l'arrêt du traitement à la gramine pourrait éviter la mort racinaire et permettre le renouveau de la croissance racinaire, et est-ce que la température aurait un effet dans ce cadre ?

d. Expérience 4 : précision de l'impact et de la période de récupération

Étant donné la conclusion de l'expérience 3, l'objectif de l'expérience 4 était d'arriver à déterminer s'il y avait récupération de la croissance racinaire après la fin du traitement, avec présence de DMSO et courte période de traitement. Pour ce faire, les données récoltées ont été analysées continuellement jusqu'à ce que la pente calculée par traitement soit significativement différente de la pente initiale, et ce pour chaque traitement. La baisse de croissance a également été vérifiée graphiquement. Une fois la différence devenue significative, les traitements ont été stoppés et les plantes ont été remises dans de la solution nutritive. Pour la solution de **gramine** à 2 mM, ce procédé a résulté en un traitement de **10 heures**. Pour celle d'**hordénine** à 2 mM, il a fallu **26 heures** avant d'observer un effet significatif.

Les données récoltées ont été mises en graphique et sont visibles à la figure 27. Les plantes mortes dès le début ont été enlevées. Il est à noter que la phase expérimentale de cette expérience a été réalisée par une stagiaire et qu'il est possible qu'un effet d'opérateur soit

présent. Une réplication des résultats serait donc intéressante pour confirmer les effets observés.

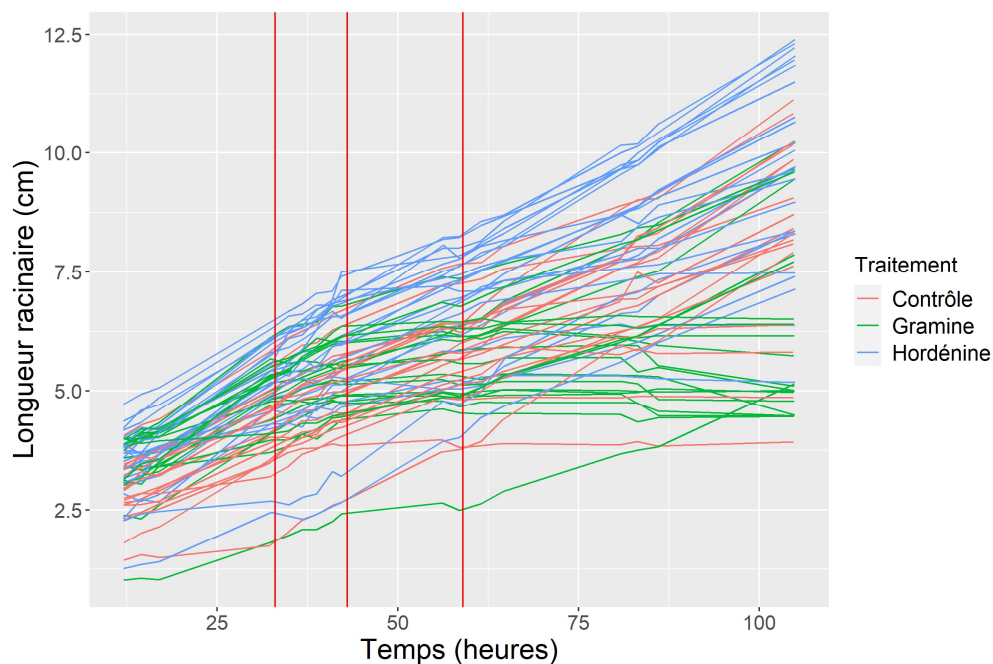


Figure 27 : Évolution de la longueur racinaire au cours du temps selon le traitement. La première ligne verticale rouge indique le commencement des traitements. La deuxième ligne rouge indique la fin du traitement à la gramine tandis que la troisième ligne rouge indique la fin du traitement à l'hordénine. Chaque couleur de courbe correspond à un produit différent.

Lorsqu'on regarde ce graphique, on peut remarquer qu'à la fin de l'expérience, les plantes faisant partie du traitement à la gramine ont une moyenne de taille plus basse que celles du traitement à l'hordénine, ce qui était également le cas lors de l'expérience précédente. En revanche, cette fois-ci, l'hordénine a une taille racinaire moyenne supérieure à celle du groupe contrôle. On peut cependant remarquer que la pente globale de croissance est similaire pour les deux groupes avant le traitement et qu'un écart était déjà présent dès le début de l'expérience, sans doute à cause d'une mauvaise répartition des plantes dans les bacs.

Un élément intéressant confirmé par cette expérience est l'aspect définitif que peut avoir la gramine. Effectivement, dans l'expérience précédente, les plantes restaient dans la gramine, et la baisse de croissance était assez radicale pour tout le groupe. Dans ce cas-ci, les plantes sont sorties du traitement, mais un haut taux de mortalité reste présent (75 %). Un détail intéressant à noter est la baisse du taux de mortalité au sein du traitement à la gramine entre l'expérience 3 et l'expérience 4. Pour les plantes encore vivantes à la fin de l'expérience,

on observe une taille globalement plus faible comparée au contrôle. Le produit a donc un effet potentiellement définitif. Ceci est visible sur la figure 28.

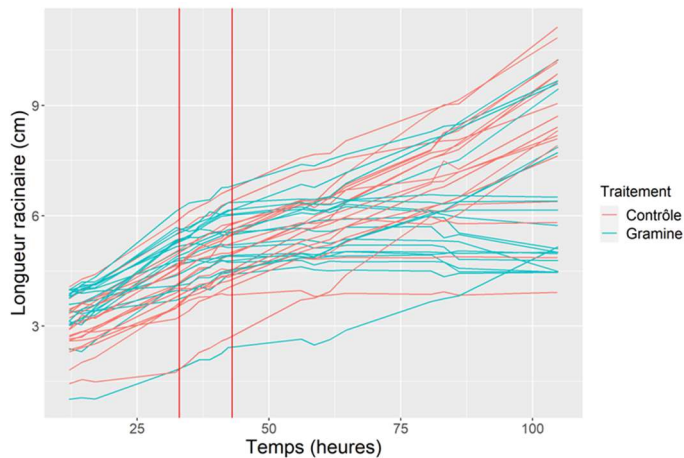


Figure 28 : Évolution de la longueur racinaire au cours du temps et pour le traitement à la **gramine** et le contrôle. La première ligne rouge correspond au début du traitement tandis que la deuxième ligne rouge correspond à la fin du traitement.

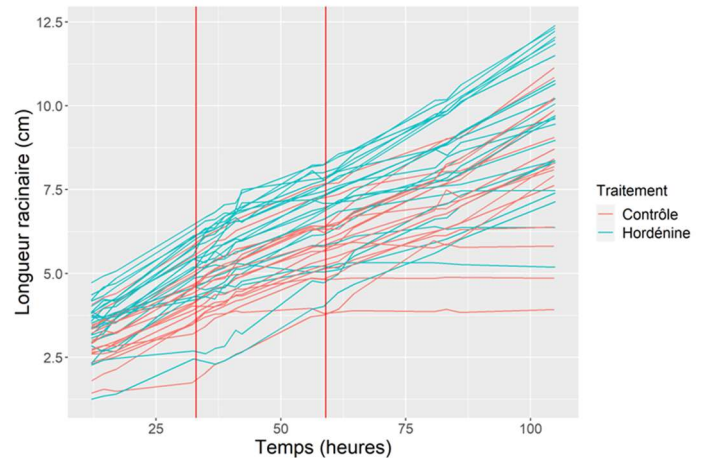


Figure 29 : Évolution de la longueur racinaire au cours du temps et pour le traitement à l'**hordénine** et le contrôle. La première ligne rouge correspond au début du traitement tandis que la deuxième ligne rouge correspond à la fin du traitement.

À côté de cela, l'effet qu'on observe pour l'hordénine n'est pas définitif mais bien momentané (à ces concentrations et dans ces conditions). L'effet prend plus de temps à se faire sentir, et se dissipe lorsque le produit est retiré. Ceci est visible sur la figure 29. On peut cependant recenser quelques morts (13 %) à la fin de l'expérience, mais en moindres proportions. De plus, le contrôle a une proportion de racines mortes assez semblable (17 %), indiquant la possibilité qu'avoir un certain taux de mortalité arrive sans produit. À nouveau, il est également possible qu'un effet d'opérateur soit présent ici.

Le modèle utilisé pour vérifier le caractère significatif de l'impact est un modèle linéaire à double tendance avec tests d'hypothèses. Pour vérifier si les racines récupèrent leur vitesse de croissance initiale après le traitement, il a été appliqué à la longueur racinaire avant et après traitement (par traitement). Selon le modèle, la pente finale associée au traitement à la gramine est significativement plus basse que la pente initiale ($p\text{-val} = 4,46 \cdot 10^{-07}$). De même, la pente finale associée au traitement à l'hordénine est significativement plus basse que la pente initiale ($p\text{-val} = 0,01$). Par contre, pour le contrôle, la pente finale n'est pas significativement différente de la pente initiale ($p\text{-val} = 0,16$). La croissance des racines a donc été influencée par les traitements et n'est pas revenue à sa vitesse initiale après leur application.

Pour ce qui est des températures, à nouveau, il n'était pas prévu de les récolter, mais après analyse des résultats, il a semblé judicieux de les comparer aux courbes. Malheureusement, les données sont incomplètes, mais on peut tout de même observer

l'apparition d'un important pic de température au niveau de l'heure 55 ($> 38^{\circ}\text{C}$). Ce pic de température n'est pas loin du moment du traitement. Comme pour l'expérience 3, on ne peut pas considérer que la température est la seule source de variation au sein des groupes, étant donné que les variations observées en fin d'expérience sont non homogènes entre les groupes. Durant cette expérience, on a distingué deux effets des produits : un plutôt temporaire pour l'hordénine (baisse de croissance mais faible taux de mortalité), et un plus définitif pour la gramine (haut taux de mortalité). Il se pourrait donc que l'effet observé sur le groupe hordénine soit juste ou en partie lié à la chaleur, surtout que le groupe contrôle semble avoir un taux de mortalité semblable. Pour l'effet observé sur le groupe gramine, il est peu probable qu'il soit uniquement lié à la chaleur, étant donné la différence marquée avec les autres traitements et les effets déjà observés par le passé. En revanche, il est à nouveau possible que la force de l'effet soit due à la combinaison du produit et de la chaleur.

Globalement, on observe donc deux comportements bien distincts entre les deux traitements : pour la gramine, il y a un haut taux de mortalité et une faible récupération, pour une durée de traitement de 10 heures et pour l'hordénine, il y a une meilleure récupération et un faible taux de mortalité, pour une durée de traitement de 26 heures.

Divers éléments sont à retenir de cette expérience. On observe un mode d'action assez différent entre gramine et hordénine, l'un à action rapide et définitive (gramine), l'autre à action lente et avec possibilité de récupération (hordénine). Dans ce dernier cas, il est peu probable que la chaleur soit la seule cause du taux de mortalité, vu la variation du taux de morts entre traitements. Cependant, il serait tout de même possible que l'hordénine n'ait pas d'effet notable à cette concentration et que la baisse de croissance soit uniquement due à la température. Il serait également possible qu'il y ait un effet de combinaison avec les produits, cet effet se manifestant différemment selon le produit. Enfin, une autre possibilité serait que la gramine fragilise le système racinaire (ou la plante entière) et que, combinée à la chaleur, elle engendre cette mortalité, là où l'hordénine n'impacte pas encore assez le système racinaire pour engendrer cette même mortalité. Dans tous les cas, l'effet de la gramine est plus radical et permet uniquement une récupération partielle (voire nulle), tandis que l'effet de l'hordénine est moins marqué, et permet une meilleure récupération ultérieure.

e. Expérience 5 : vérification de l'effet de température

Comme dit plusieurs fois précédemment, la température a été remarquée comme un potentiel facteur d'influence, surtout après l'obtention de résultats dont la variabilité et la

tendance étaient parfois assez inattendues. La possibilité d'un mauvais rinçage de bacs a aussi été considérée comme potentiellement impactant mais difficilement calculable sans expérience supplémentaire. Après la quatrième expérience, il a donc été décidé de tester l'impact des bacs et de la chaleur sur la croissance racinaire. Le but était d'avoir une idée plus précise de l'influence potentielle de ces deux facteurs et ce dans des conditions expérimentales semblables à celles des expériences précédentes (aéroponie, chaleur en serres, humidité, etc.).

Comme précautions pour cette expérience, le lavage des bacs a été effectué comme pour les autres expériences, au savon et à l'eau chaude. Ces bacs ont ensuite été séchés durant 24 heures avant d'être remis en marche. Le système de pompe et de tuyaux a également été rincé abondamment à l'eau déminéralisée. Pour les températures, aucun effet artificiel n'a été ajouté, comme pour les expériences précédentes. Les données de températures sont issues du dispositif de mesure présent dans la serre où se sont déroulées les expériences 1 à 5. Les températures des autres expériences ont également été tirées de ce dispositif.

Ces températures sont représentées sur la figure 30, avec la croissance racinaire en fonction du temps, et ce pour les trois bacs. Les plantules qui n'affichent aucune croissance racinaire au début de l'expérience (premières 24 h) sont considérées comme mortes et ont été retirées des données. Le bac A contenait précédemment le groupe contrôle, le bac B contenait le groupe gramine et le bac C contenait le groupe hordénine.

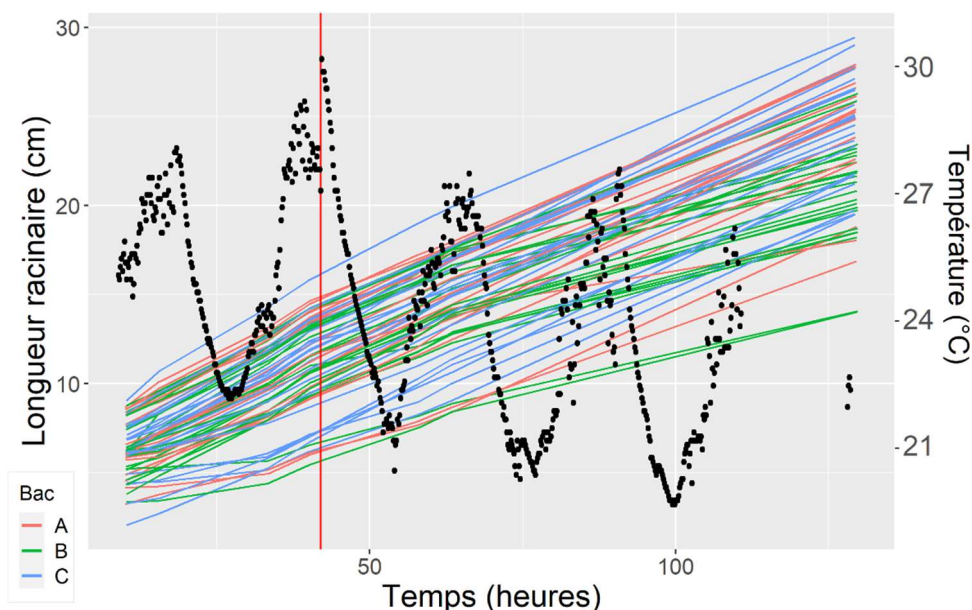


Figure 30 : Combinaison de graphiques représentant, d'une part, l'évolution de la longueur racinaire en fonction du bac, et d'autre part, la température ambiante, les deux sur une même échelle temporelle. La longueur racinaire des plantules est représentée par les lignes de couleurs (échelle de gauche) tandis que la température est représentée par les points noirs (échelle de droite). Les couleurs des courbes de croissance représentent les différents bacs aéroponiques de l'expérience. La ligne rouge verticale indique le temps correspondant à la plus haute température.

Comme pour les expériences précédentes, les données de température sont incomplètes, mais seul le dernier jour manque ici. Cela ne nous empêche pas de constater un petit pic de chaleur aux alentours de l'heure 40, laquelle a été marquée d'une ligne verticale rouge sur la figure. La température y dépasse les 30°C alors qu'elle ne dépasse pas les 28°C le reste du temps. On peut aussi remarquer la baisse globale de température après ce pic de chaleur. Il est important de noter que ce pic de chaleur est plus faible que les pics précédents, celui de l'expérience 4 dépassant les 38°C.

Sur cette figure, plusieurs éléments sont visibles. Tout d'abord, la vitesse de croissance semble diminuer légèrement après le pic de chaleur. Ensuite, le bac B semble plus impacté que les autres. Enfin, malgré cette baisse légère de pente, la croissance poursuit tout de même son cours et aucune plante ne meurt après les premières 24 heures dans la plateforme.

Les résultats ont été analysés avec un modèle linéaire à double tendance, en considérant les périodes *avant* et *après* pic de chaleur comme niveaux du facteur « moment » et les bacs A, B et C comme niveaux du facteur « bac » et toujours en faisant des tests d'hypothèses. Pour le reste, l'analyse a utilisé l'échelle de temps modifiée comme expliquée dans le point 5.e. La différence de pente avant et après le pic de chaleur n'est significative que pour le bac B ($p\text{-val} = 0,002$) tandis que les bacs A et C n'ont pas une pente significativement plus basse après le pic de chaleur ($p\text{-val}_{\text{Bac A}} = 0,58$ et $p\text{-val}_{\text{Bac C}} = 0,86$). Le bac B a donc une baisse de croissance après le pic de chaleur tandis que les deux autres bacs ne sont pas autant influencés (voire pas du tout).

L'effet remarqué sur le bac B pourrait avoir deux origines : le produit utilisé précédemment dans le bac (gramine) ou la température (ou une combinaison des deux). Dans le premier cas, la présence du produit malgré le lavage des bacs aurait eu un effet dès le début de l'expérience, ce qui n'est pas le cas ici. Il est donc peu probable que le produit utilisé précédemment dans ce bac soit la seule cause de l'effet. Pour ce qui est de la température, elle aurait dû avoir de l'effet sur les 3 bacs de manière égale (ou environ). En effet, la température n'aurait pu avoir un effet différent entre les bacs que si ceux-ci étaient loin les uns des autres, ou exposés au soleil différemment. Les trois bacs étant collés les uns aux autres, une différence d'environnement créant une variation si forte au niveau de la croissance racinaire est peu probable. La dernière possibilité serait que la température et les résidus de produit soient responsables ensemble de l'effet. En effet, il se pourrait que l'effet du produit ne devienne visible (ou en tout cas notable à cette concentration) qu'à une certaine température. Les résidus

combinés au pic de température auraient donc causé la baisse de croissance du bac B. Cette hypothèse est supportée par le fait que les plantes affectées aux traitements gramine avaient déjà montré une baisse de croissance assez importante dans les expériences précédentes, et que l'hypothèse de combinaison d'effets avait déjà été évoquée. L'effet ne serait donc visible que pour le bac ayant contenu la solution la plus impactante, et uniquement après le pic de chaleur. Il est important de noter qu'une température bien supérieure à 30°C (38°C) avait été enregistrée pour l'expérience 4, et que l'hypothèse des facteurs combinés expliquerait le nombre de morts du traitement à la gramine (pour l'expérience 4). Dans tous les cas, plus d'expériences sont nécessaires pour mieux comprendre ce phénomène.

Comme pour toute expérience, certains éléments auraient pu être améliorés. Par exemple, il aurait été intéressant de pouvoir mettre en place un test permettant la détection des produits dans la solution nutritive à la fin de l'expérience. Ceci aurait éventuellement permis d'associer la présence de traces de produit à certains effets. Ensuite, il aurait été idéal d'avoir un pic de chaleur plus important, pour avoir un effet clair et une plus haute ressemblance avec les conditions des expériences précédentes. Enfin, avoir plus de réplicats aurait éventuellement permis d'avoir une idée plus claire de l'impact que peut avoir un bac sur les données et sur les différences « attendues » entre bacs. Impliquer des bacs n'ayant pas encore servi à ce mémoire aurait également pu aider à distinguer effet résidus et nouvel effet.

f. Expérience 6 : prise en main de RootPhAir

Le but de la sixième expérience était de prendre en main la plateforme RootPhAir et de vérifier que les concentrations ayant eu un impact significatif lors des expériences dans les petits bacs aéroniques produisent des effets similaires dans la plateforme RootPhAir, dans laquelle la brumisation de solution nutritive est plus fine que dans les petits bacs. Pour rappel, durant cette expérience, de la gramine à 0,5 mM a été appliquée au jour 3 et au jour 14 et ce pendant 6 heures. De plus, seulement 100 plantes ont été placées dans la plateforme, toutes venant de la variété RGT Planet.

La plateforme RootPhAir permettant d'étudier 990 plantes à la fois, cette expérience et la suivante ont demandé beaucoup plus d'organisation, de travail et d'apprentissage. Le but de cette première expérience sur RootPhAir était donc également de prendre en main la

plateforme, d'adapter le protocole de mise en place de l'expérience et de savoir réagir aux potentiels problèmes pour éviter les trous dans les données.

Concernant le déroulement de l'expérience, on notera que le fonctionnement des automates a été interrompu à cinq reprises, à cause de pannes ou d'incidents techniques divers. Durant ce genre d'événement, les images ne sont pas prises par le scanner. Les séries temporelles sont donc interrompues, comme on le constate à la figure 31. Par manque de chance, deux de ces arrêts ont eu lieu juste après le premier traitement et juste avant le second, ce qui a limité notre capacité à analyser l'effet instantané de ces traitements sur la croissance. De plus, le second traitement est arrivé trop tard durant l'expérience puisque, pour une proportion élevée des plantes, la racine la plus longue avait dépassé le bas de la fenêtre de scan. Pour terminer, les traitements ont eu lieu à des moments où la température dans la serre

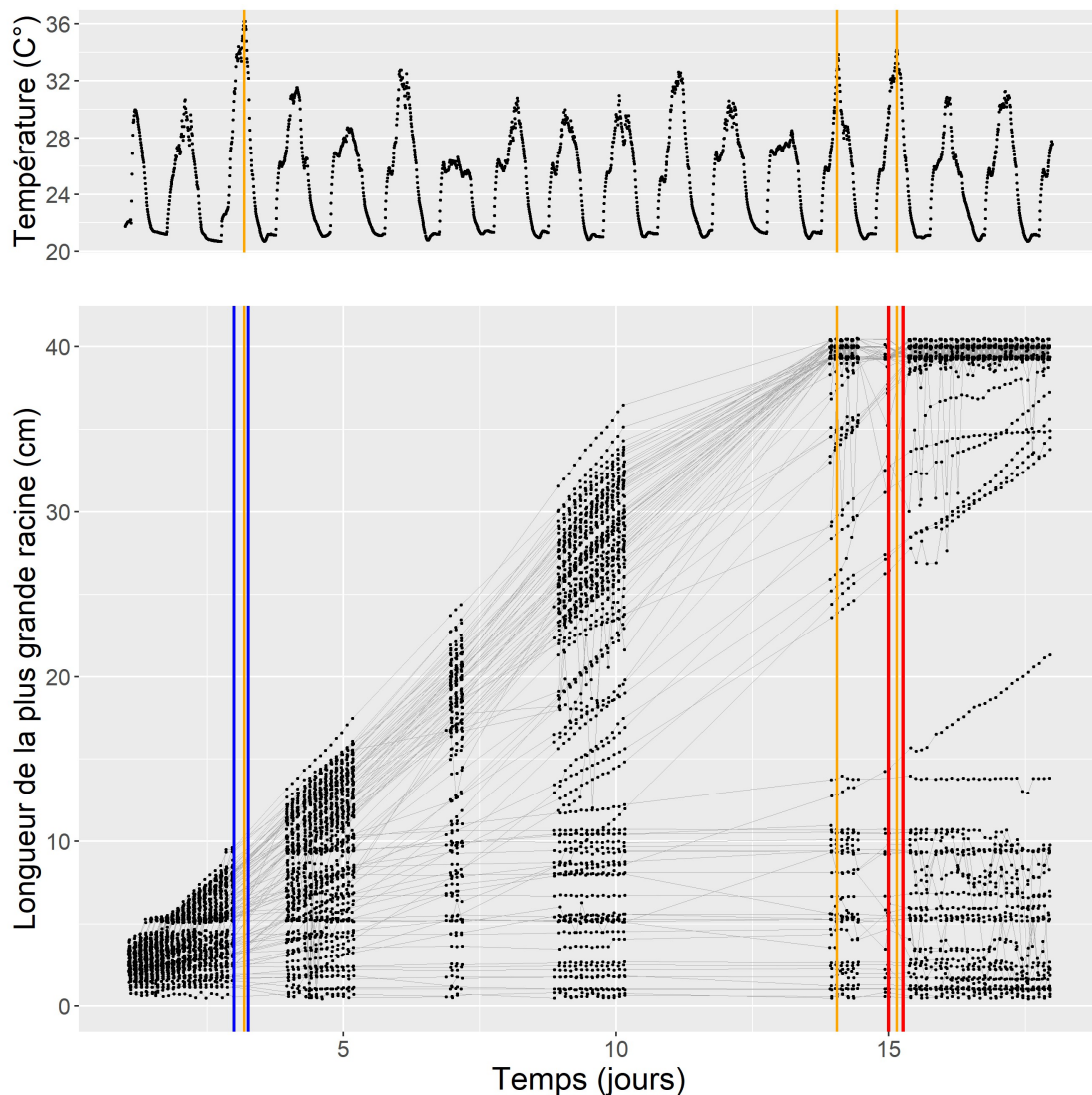


Figure 31 : Évolution de la température ambiante en serre combinée à l'évolution de l'élongation racinaire des 100 plants d'orge dans le bac B de RootPhAir. Les lignes bleues indiquent le début et la fin du premier traitement à la gramine, tandis que les lignes rouges indiquent les limites du deuxième traitement, toujours à la gramine. Les lignes orange désignent les pics de chaleur. Chaque point correspond à une mesure et celles-ci sont liées entre individus. L'échelle de temps est la même pour les deux graphiques.

était plus élevée, de nouveau par manque de chance. Pour ces diverses raisons, l'expérience 6 n'a pas fait l'objet d'une analyse statistique. Elle a cependant bien servi son but de prise en main de la plateforme en vue d'une meilleure organisation de l'expérience suivante.

g. Expérience 7 : variabilité génétique de la réponse de l'orge à la gramine et à l'hordénine

Le but de la dernière expérience, et également le but initial de ce mémoire, était de pouvoir observer si la sensibilité à l'hordénine et la gramine est sous contrôle génétique, et donc s'il y a des différences de sensibilité aux produits entre différentes variétés d'orge. Cette expérience a donc comparé la croissance racinaire de 30 variétés d'orge lorsque de la gramine ou de l'hordénine était ajoutée à la solution nutritive en aéroponie. Étant donné le fait que RootPhAir compte deux bacs aéroponiques, il a été décidé qu'il n'y aurait pas de bac contrôle mais bien un bac contenant chaque produit. Compte tenu des résultats de l'expérience 6, le timing des traitements a été ajusté en fonction de la fenêtre du scan et des prévisions météorologiques. La concentration des produits lors de la première application est la même que pour l'expérience 6, c'est-à-dire 0,5 mM, tandis que la concentration de la seconde application est de 1 mM pour les deux produits. Dans la suite du texte, le terme « traitement » fait référence à la première ou à la seconde application. Les données du bac hordénine ont été analysées séparément des données du bac gramine.

Sur la figure 32, les données récoltées sur le bac A (hordénine) sont représentées selon le temps en jours. On peut voir que les données ne sont disponibles qu'à partir de quelques heures avant le jour 7, ceci en raison de problèmes techniques et du fait que, en raison de leur petite taille, les racines n'arrivaient pas dans le cadre du scanner avant le jour 6. L'expérience a été arrêtée au cours du jour 12 à cause de problèmes techniques. Sur cette figure, on observe une croissance assez linéaire, sans mortalité à la fin de l'expérience.

Sur la figure 33, les données du bac B (gramine) sont présentées, à nouveau selon le temps en jours. Malgré un petit trou de quelques mesures avant le premier traitement, peu de données sont manquantes, permettant un calcul plus fiable des pentes de croissance. Sur ce graphique-ci, une croissance assez constante est visible, malgré un ralentissement plus marqué pour certains individus à la fin de l'expérience.

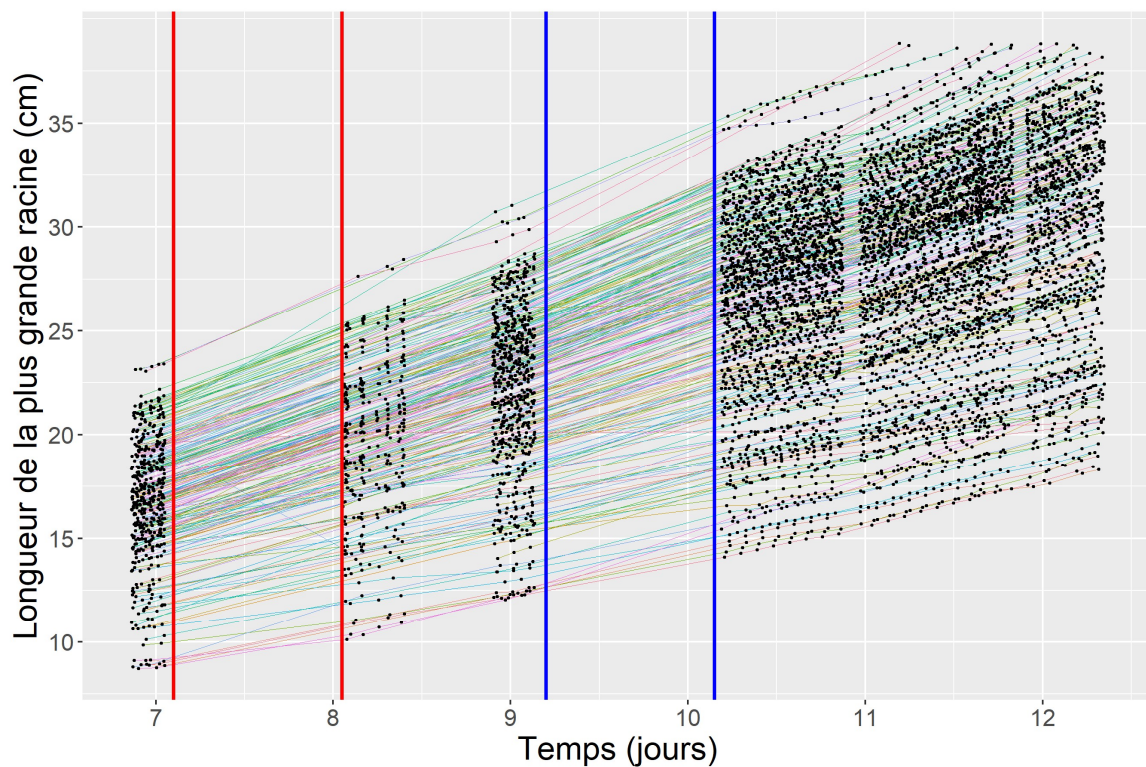


Figure 32 : Évolution de la croissance racinaire au cours du temps en fonction de la variété pour le bac contenant de l'hordénine. Le premier traitement (0,5 mM) est appliqué à partir de la première ligne rouge verticale et jusqu'à la deuxième. Le deuxième traitement (1 mM) est appliqué à partir de la première ligne bleue verticale et jusqu'à la deuxième. Chaque point noir représente une mesure de la plus longue racine d'une plante et chaque ligne relie les mesures d'une plante. La couleur des lignes correspond à la variété.

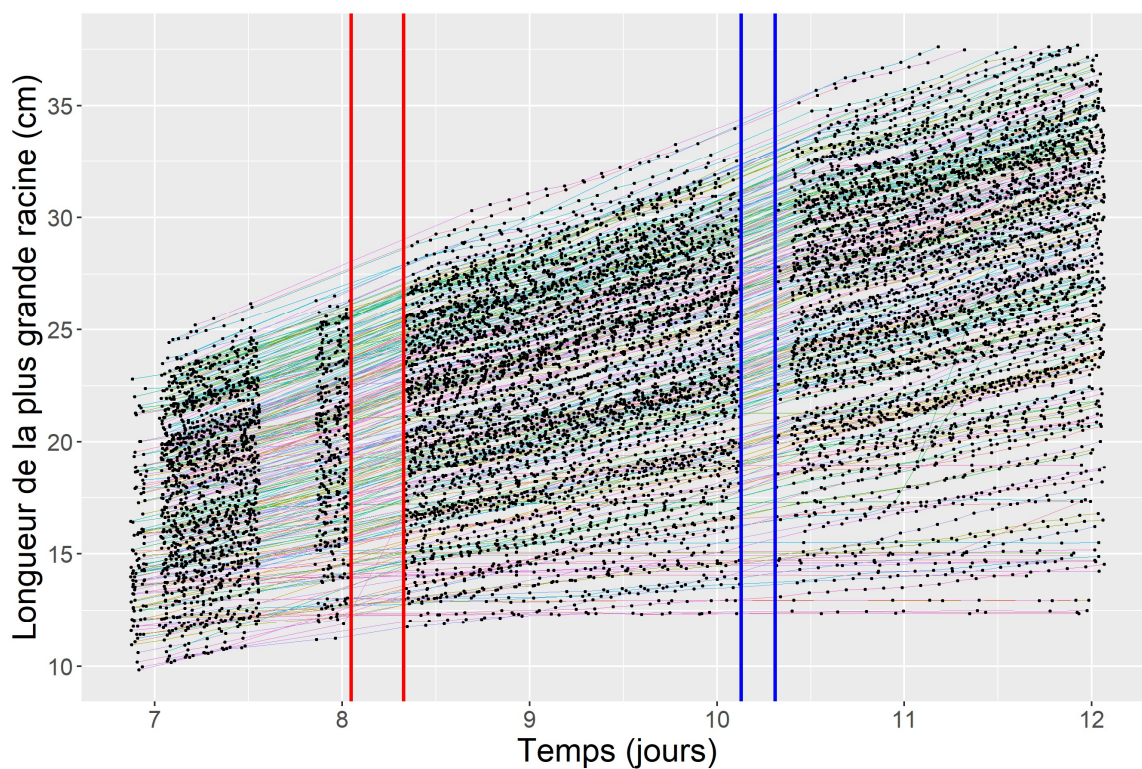


Figure 33 : Évolution de la croissance racinaire au cours du temps en fonction de la variété pour le bac contenant de la gramine. Le premier traitement (0,5 mM) est appliqué à partir de la première ligne rouge verticale et jusqu'à la deuxième. Le deuxième traitement (1mM) est appliqué à partir de la première ligne bleue verticale et jusqu'à la deuxième. Chaque point noir représente une mesure et chaque ligne relie les mesures d'une plante. La couleur des lignes correspond à la variété.

Pour analyser ces données, le modèle linéaire à double tendance avec tests d'hypothèses sur différentes combinaisons linéaires de paramètres a été utilisé. Les deux traitements ont été testés séparément, en ne prenant que la section des données correspondant au traitement étudié. Pour le premier traitement, toutes les données jusqu'au début de la seconde application ont été utilisées. Pour le deuxième traitement, toutes les données à partir de la fin de la première application ont été utilisées. De cette manière, l'analyse de chaque traitement a été réalisée sur un jeu de données « avant » / « après » propre au traitement.

Pour le **premier** traitement à l'**hordénine** (bac A – 0,5 mM), aucune variété n'a affiché de p-valeur inférieure à 5 % pour le test de variation de pente avant-après. La p-valeur la plus basse était celle de la variété *RGT Planet* ($p\text{-val}_{\text{RGTP}} = 0,07$) et la suivante était supérieure à 0,1. Curieusement, l'estimation du changement de pente entre le moment avant et après pour la variété *RGT Planet* est positive ($\text{estimate} = 4,43$), indiquant que la pente est plus haute après traitement qu'avant traitement, et que la vitesse de croissance a donc augmenté. Ce cas de p-valeur inférieure à 5 % pour une augmentation de pente est le seul qui s'est présenté durant cette expérience. Des résultats plus détaillés pour le premier traitement à l'hordénine sur toutes les variétés sont visibles dans l'annexe 5.A.

Pour le **deuxième** traitement à l'**hordénine** (bac A– 1 mM), trois variétés ont affiché des p-valeurs inférieures à 5 % pour le test de changement de pente. La valeur plus faible est celle de la variété *Golden Pheasant* ($p\text{-val}_{\text{GP}} = 0,03$), suivie de la variété *Horn* ($p\text{-val}_{\text{H}} = 0,03$) et enfin de la variété *RGT Planet* ($p\text{-val}_{\text{RGTP}} = 0,04$). Toutes les autres p-valeurs étaient supérieures à 0,1. Des résultats plus détaillés pour le deuxième traitement à l'hordénine sur toutes les variétés sont visibles dans l'annexe 5.B.

Pour le **premier** traitement à la **gramine** (bac B – 0,5 mM), seule la variété *Han River* a obtenu une p-valeur inférieure à 5 % ($p\text{-val}_{\text{HR}} = 0,04$) pour le test de changement de pente. La variété la plus proche en termes de p-valeur est la variété *Multan* ($p\text{-val}_{\text{M}} = 0,06$) tandis que les autres variétés ont toutes une p-valeur supérieure à 0,1. Pour le premier traitement à la gramine, les résultats plus détaillés sont disponibles dans l'annexe 5.C.

Pour le **deuxième** traitement à la **gramine** (bac B – 1 mM), deux variétés ont eu des pentes significativement différentes entre l'avant et l'après traitement. La première est *Pamella Blue* ($p\text{-val}_{\text{PB}} = 0,01$) et la deuxième est *White Smyrna* ($p\text{-val}_{\text{WS}} = 0,04$). Les autres variétés ont

toutes une p-valeur supérieure à 0,1. Des résultats plus détaillés pour ce traitement sont visibles dans l'annexe 5.D.

Dans l'ensemble, sur les 30 variétés testées, on en observe assez peu étant impactées par les produits. Parmi les quatre situations testées (produit x concentration), aucune variété n'est impactée plusieurs fois négativement. Pour le traitement à l'hordénine, il se peut que 0,5 mM de concentration soit trop faible que pour impacter négativement la croissance. Cependant, il est intéressant de noter que, lors des expériences menées par Renaud Bulpa pour son mémoire, certaines concentrations plus faibles créaient une augmentation de la vitesse de croissance racinaire. Il se pourrait donc que, en aéroponie, 0,5 mM d'hordénine soit cette concentration où on retrouve des effets positifs. Pour ce qui est du traitement à 1 mM, on voit plus d'effets négatifs, même si seulement 3 variétés sont impactées, dont la variété RGT Planet qui présentait au premier traitement une augmentation de croissance. On pourrait parler d'effet dépendant de la concentration, avec plus de variétés influencées à plus haute concentration. Évidemment, il aurait été intéressant d'effectuer un troisième traitement à plus haute concentration pour pouvoir observer si l'effet se maintient parmi les variétés. Ce type d'effet avait également été remarqué durant le mémoire de Renaud Bulpa. Il aurait également été intéressant de refaire l'expérience avec la concentration 0,5 mM d'hordénine (ou moins) pour vérifier le potentiel effet bénéfique à cette concentration.

Pour le traitement à la gramine, les résultats sont un petit peu plus surprenants car les variétés ayant montré de la sensibilité à 0,5 mM de gramine ne sont pas les mêmes que celles ayant montré de la sensibilité à 1 mM. À nouveau, on peut émettre des hypothèses sur la nature du phénomène. Il serait possible que la concentration soit déjà toxique pour les deux variétés sensibles à 0,5 mM tandis que les autres variétés ne seraient pas encore impactées à cette concentration. Effectivement, il se pourrait que toutes ces variétés n'aient pas le même seuil de sensibilité audit produit et donc que les concentrations plus fortes impactent plus de variétés. Cependant, il est intrigant que les variétés sensibles à faible concentration ne soient pas également sensibles à haute concentration. À cela, on pourrait associer l'hypothèse d'une réaction de la plante adaptant sa croissance à la présence de produit. Lors de la deuxième application, les plantes ayant déjà été impactées auraient donc adapté leur métabolisme et ne montreraient plus de signe de sensibilité. Cette adaptation à un stress pour une meilleure gestion de stress futurs s'appelle du priming. On pourrait également émettre l'hypothèse de la croissance qui baisse après le premier traitement puis reste basse lors du deuxième, n'affichant

pas de baisse de croissance apparente. Ce type de réponse a été observé pour certaines autres expériences, où la pente baisse mais ne remonte pas après. Cependant, ceci n'a pas été constaté dans les données de cette expérience. En effet, les variétés impactées à la première application avaient plutôt une augmentation de pente la deuxième fois. Évidemment, il faudrait plus de données pour pouvoir confirmer ou infirmer de tels phénomènes et mieux définir ce qui se passe lors de l'application de telles concentrations de produits.

Dans tous les cas, aucune variété n'a affiché de sensibilité aux deux produits, quelle que soit la concentration du traitement. Cependant, ce mémoire était en partie basé sur l'idée de trouver les variétés les plus résistantes à ces produits et donc moins sujettes à l'autotoxicité pour pouvoir les utiliser dans la recherche de solutions contre les adventices. Il aurait été intéressant de constater une p-valeur associée à une augmentation de pente chez plusieurs variétés ou dans plusieurs situations, mais cela n'a été observé que chez RGT Planet pour une concentration de 0,5 mM d'hordénine. Étant donné ces résultats, ce n'est pas la p-valeur qui va être observée mais bien l'estimation de la différence entre la pente avant et la pente après. Le but est de trouver les variétés ayant une estimation de variation de pente nulle à positive, signifiant que la pente après est plus haute que la pente avant, et donc que la variété continue aisément sa croissance voire est boostée par les produits à ces concentrations et dans ces conditions.

Pour le **premier** traitement à l'**hordénine** (bac A), de nombreuses variétés ont eu une estimation de variation de pente positive. Voici la liste des variétés dans l'ordre croissant d'estimation : *Minia* (0,01), *Sandrel* (0,31), *Trebi* (0,58), *Arequipa* (0,77), *Morex* (0,78), *Lion* (1,37), *Horn* (1,41), *California Mariout* (1,67), *Oderbrucker* (1,71), *Hannechen* (2,24), *Glabron* (2,24), *Maison Carre* (2,40), *Han River* (3,56), *Algerian* (3,79), *Wisconsin Winter* (3,89), *RGT Planet* (4,43), *Golden Pheasant* (4,76) et *Meloy* (6,86). Il y a une forte variation au sein des résultats, mais tous restent intéressants car, dans le pire des cas, les plantes maintiennent leur croissance, et dans le meilleur des cas, leur croissance augmente notablement suite au traitement. Ces résultats détaillés sont visibles dans l'annexe 5.A.

Pour le **deuxième** traitement à l'**hordénine**, moins de variétés ont montré une estimation de variation de pente positive. Voici la liste de ces variétés classées par ordre croissant de valeur d'estimation : *Trebi* (0,11), *Alpha* (0,39), *Arequipa* (0,43), *Maison Carre* (0,51), *Orel* (0,68), *California Mariout* (0,69), *Atlas* (1,29) et *Sandrel* (1,46). Dans ce cas-ci, plus de variétés ont eu des estimations de variation négatives, indiquant une baisse de pente après

traitement. De plus, les valeurs positives sont moins hautes, avec une variation de pente maximale de 1,46 par rapport au 6,86 du premier traitement à l'hordénine. Les variétés ayant eu une augmentation de pente après traitement à l'hordénine pour les deux concentrations sont *Trebi*, *Arequipa*, *Maison Carre*, *California Mariout* et *Sandrel*. Les tableaux reprenant tous les résultats détaillés se trouvent dans l'annexe 5.B.

Pour le **premier** traitement à la **gramine** (bac B), seulement trois variétés ont eu une augmentation de la pente après le traitement, c'est-à-dire *Arequipa* (0,04), *Wisconsin Winter* (0,15) et *Meloy* (0,39). Il est intéressant de noter que ces trois variétés étaient déjà des variétés ayant une augmentation de pente après le premier traitement à l'hordénine. Ces mêmes résultats plus détaillés sont visibles dans l'annexe 5.C.

Pour le **deuxième** traitement à la **gramine**, les variétés ayant une augmentation de pente sont *Wisconsin Winter* (0,02), *Good Delta* (0,08), *Minia* (0,18), *Manchuria* (0,24), *Alpha* (0,25), *Maison Carre* (0,34), *Horn* (0,34), *Morex* (0,83), *Sandrel* (0,88), *Hannechen* (1,14), *Han River* (1,19), *Trebi* (1,26) et *Multan* (1,47). Seule la variété *Wisconsin Winter* affiche une augmentation de pente après les deux traitements à la gramine. Le tableau reprenant l'entièreté des résultats détaillés se trouve dans l'annexe 5.D.

Globalement, il n'y a pas de variété affichant systématiquement une augmentation de croissance après traitement lorsqu'on compare les deux applications et les deux produits. Il y en a cependant plusieurs affichant une variation de pente positive malgré les deux concentrations appliquées. Pour les deux traitements à l'**hordénine**, les variétés *Trebi*, *Arequipa*, *Maison Carre*, *California Mariout* et *Sandrel* avaient une estimation de variation de pente positive. Pour la **gramine**, seule la variété *Wisconsin Winter* a eu une augmentation de pente globale après les deux traitements. Il n'y a donc pas de variété affichant une augmentation de pente après traitement pour les deux produits. De plus, il est important de rappeler que seule une de ces augmentations avait une p-valeur inférieure à 5 %.

Outre la sensibilité aux produits, l'expérience 7 visait à évaluer la présence d'un contrôle génétique de la réponse racinaire aux produits. Pour calculer la partie de la réaction observée due au contrôle génétique, on utilise le modèle et la formule du calcul d'héritabilité développés à la fin de la partie *Méthodes d'analyses statistiques*. Grâce à la formule, on obtient un pourcentage pour chaque application de chaque produit. Pour la première application **d'hordénine** (0,5 mM), on obtient **73,84 %** de variation sous contrôle génétique. Pour la deuxième application du même produit (1 mM), on obtient la valeur de **76,27 %**. Pour la

première application de gramine (0,5 mM), on obtient **61,38 %** tandis que pour la deuxième (1 mM), on obtient **47,27 %** de variance sous contrôle génétique.

Un premier fait surprenant est le fait que les informations qu'on avait jusqu'ici (Lovett *et al.*, 1994) décrivaient une production d'hordénine moins contrôlée génétiquement que celle de la gramine. Dans notre cas, qui est celui de la réaction aux produits et non leur production, il est intéressant de constater qu'il y a un moins grand contrôle génétique pour la réaction à la gramine que pour la réaction à l'hordénine, à ces concentrations. On peut également remarquer qu'il y a une différence de contrôle génétique selon les concentrations, même si cette différence est faible pour l'hordénine. Il est donc fort probable que les voies métaboliques permettant la réponse à la gramine et l'hordénine ne soient pas régulées par les mêmes gènes. De plus, il est possible que les voies métaboliques réagissent différemment selon les concentrations, impliquant éventuellement d'autres gènes lors d'une forte dose de produit.

On retient donc qu'il y a bel et bien contrôle génétique de la réponse aux produits étudiés, et que la réponse racinaire à l'hordénine est plus contrôlée génétiquement que la réponse à la gramine, pour les concentrations et les variétés testées. On retient également que les variétés sensibles à l'hordénine ne sont pas spécialement sensibles à la gramine et *vice versa*. Cela n'empêche pas qu'une variété soit sensible aux deux produits, même si ce n'est pas constaté ici.

Évidemment, comme pour toute expérience, certains éléments pourraient avoir biaisé les résultats. Tout d'abord, il est possible que certains effets soient en partie dus à un manque de données, et donc que les pentes avant / après ne soient pas entièrement représentatives de la croissance réelle de la variété. Cette situation s'applique particulièrement au bac A ayant accueilli les traitements à l'hordénine. Effectivement, pour le premier traitement à l'hordénine, on peut voir que le nombre de mesures avant et après est assez faible. Le nécessaire a été fait pour qu'il y ait au minimum trois mesures par plante de chaque côté du traitement, mais cela ne représente pas un jeu de données très complet. Les analyses issues des données du premier traitement à l'hordénine doivent donc être saisies avec des pincettes. Concernant le jeu de données du bac B, il ne semble pas manquer de mesures et les analyses faites dessus devraient être plus robustes.

Un autre élément qui aurait pu être impactant durant cette expérience est le taux de germination. Effectivement, le design expérimental attribuant une place précise à chaque variété dans la plateforme, la germination a été prévue en respectant ce design et en plaçant les graines

sur les plaques en fonction de leur place dans la plateforme. Pour assurer la suffisance du nombre de plantes pour chaque variété, un petit nombre de graines de chaque variété a été mis en germination en réserve, dans le but de remplacer celles n'ayant pas germé. Malheureusement, certaines variétés ont eu un taux de germination tellement faible que la réserve a vite été épuisée et certaines places n'ont pas pu être remplies dans la plateforme, diminuant le nombre d'individus de certaines variétés. Dès lors, une influence potentielle pourrait venir du fait que certaines graines ont été ajoutées après le début, la réserve ayant été lancée un jour plus tard et donc transférée dans la plateforme avec un jour de retard. Dès lors, les données de ces variétés auraient une plus haute variance. Ceci n'est cependant pas censé impacter leur pente de croissance, et, sauf problème, ne devrait pas impacter l'analyse statistique.

Globalement, on peut tirer plusieurs informations de cette expérience. Tout d'abord, certaines variétés sont bel et bien impactées par les produits. Ensuite, les variétés sensibles à la gramine ne sont pas spécialement les mêmes variétés que celles sensibles à l'hordénine. De plus, peu de variétés étaient impactées par la première et la deuxième concentration d'un même produit. Enfin, on observe également des variétés ne montrant aucun signe de sensibilité, voire une hausse de pente suite aux traitements. Cependant, seule la variété RGT Planet a affiché une p-valeur inférieure à 5 % pour ces augmentations.

Dans le cadre de cette recherche, il serait très intéressant de faire plus de tests sur les variétés ayant affiché une augmentation de pente, afin d'avoir plus d'individus de chaque variété sur qui faire les mesures et vérifier les effets soupçonnés. Il serait aussi intéressant d'avoir l'occasion de répliquer l'expérience, afin de confirmer les effets négatifs observés sur certaines variétés. De plus, avoir l'occasion de calculer le pourcentage de contrôle génétique sur le phénomène serait intéressant pour d'autres variétés et d'autres concentrations de produits. Enfin, avoir l'occasion de faire la même expérience en intégrant un bac de contrôle (solution nutritive sans produit) pourrait mettre en relief les données et permettrait de comparer les jeux de données des deux produits.

7. Discussion

Durant ce mémoire, différentes hypothèses évoquées au début ont été confirmées tandis que d'autres ont été infirmées.

Pour la première phase expérimentale, l'hypothèse concernant la baisse de vitesse de croissance racinaire suite à l'application d'un produit est surtout vérifiée pour la gramine. L'hordénine, de son côté, a montré moins d'impact sur la variété RGT Planet, malgré un effet remarqué durant certaines expériences. Lorsqu'on s'intéresse à la seconde hypothèse, c'est-à-dire celle d'une réaction racinaire proportionnelle à la concentration des produits, on peut voir que c'est parfois le cas, notamment lors de la dernière expérience, où le premier traitement à l'hordénine (0,5 mM) n'a pas impacté négativement la vitesse, mais bien le deuxième (1 mM). Une telle observation a également pu être faite sur la première phase expérimentale, durant laquelle les effets n'ont été remarqués que lors des expériences à 2 mM mais pas à 1 mM. Cependant, la relation n'est pas toujours très claire et plus de données seraient nécessaires pour la mettre en évidence ou l'exclure. De plus, l'hypothèse concernait également la période de récupération et sa vitesse. Dans son cas, les données n'ont pas permis de comparer les variations de vitesse de récupération, indiquant potentiellement son absence. En ce qui concerne la dernière hypothèse, laquelle était relative à la puissance de l'effet des produits à même concentration, on a vu que la gramine avait parfois plus d'effet que l'hordénine à même concentration.

Pour ce qui est de la deuxième phase, l'hypothèse principale concernait la présence d'une sensibilité différente selon la variété, et donc d'un contrôle génétique de la réponse aux produits. Au cours de l'expérience 7, plusieurs variétés ont été identifiées comme sensibles aux produits. D'autres variétés ont été identifiées comme affichant une hausse de pente de croissance après traitement. L'hypothèse a également été confirmée par le calcul de l'héritabilité (H^2) fait sur les résultats de la dernière expérience. Les pourcentages de contrôle génétique allaient de 47,27 % à 76,27% pour les réponses racinaires obtenues aux différentes concentrations des deux produits.

Plusieurs éléments étaient soulignés dans le mémoire de Renaud Bulpa et se retrouvent également dans ce travail. Tout d'abord, les effets de la gramine et de l'hordénine ne sont pas les mêmes sur toutes les variétés testées. Certaines variétés montrent une sensibilité à la gramine tandis que d'autres en montrent à l'hordénine, et enfin d'autres n'en montrent pas du tout, ceci restant pour les concentrations testées. Ensuite, il avait aussi été remarqué que les

effets observés pouvaient être dépendants de la concentration des produits appliqués, ce qui a également été le cas ici, que ce soit sur les petits bacs ou sur la grande plateforme. Cependant, on peut remarquer que les réponses aux concentrations n'étaient pas exactement cohérentes entre les plateformes, vu qu'un effet était observé à 0,5 mM sur RootPhAir tandis qu'il a fallu une concentration de 2 mM sur les petits bacs pour voir un effet clair. Ceci pourrait être en raison du type de brumisation. Enfin, un dernier élément remarqué durant le mémoire de Renaud Bulpa était l'effet boost à certaines concentrations et sur certaines variétés. Cet effet a également été observé ici, même une seule variété a montré une p-valeur significative pour cet effet.

8. Perspectives

Au-delà des interprétations formulées pour chaque expérience dans la section *résultats*, une discussion globale peut être faite autour de l'ensemble du travail. En effet, plusieurs éléments des expériences auraient pu être améliorés et seront discutés ici.

Un premier facteur qui pourrait encore être discuté est la température des serres. Effectivement, tout au long de la période d'expérimentation, la température et l'humidité des serres ont eu l'occasion de monter dans les extrêmes, menant parfois à un questionnement des données. L'expérience 5 a montré qu'à 32 °C, l'effet de la température n'était pas observable (ou en tout cas pas homogène) sur les données. Cependant, plusieurs solutions auraient pu être considérées pour éviter tout doute. Une première solution aurait été de réaliser la phase expérimentale de ce mémoire avant l'été. Les données ont d'ailleurs montré que les températures des serres pouvaient rester hautes durant tout le mois de septembre, empêchant de faire les expériences prévues après l'été. Faire les manipulations prévues avant l'été aurait assuré une meilleure constance de température, et donc un moindre effet sur les données. Une autre option aurait été de placer les petits bacs d'aéroponie dans une chambre de culture climatisée. Cette solution aurait aidé à avoir des résultats plus fiables pour les cinq premières expériences, mais la plateforme RootPhAir n'étant pas déplaçable, l'environnement aurait changé considérablement entre les deux phases expérimentales, ce qui n'est pas idéal non plus.

Un autre élément qui pourrait avoir influencé les résultats est le fait que l'expérience ait été faite en aéroponie. Ce type de culture était crucial pour la prise de données, mais a aussi amplement modifié l'environnement racinaire des plants d'orges, modifiant potentiellement la réponse aux produits. Il aurait été intéressant de travailler en terre, mais ce type de culture ne permet pas le monitoring de la croissance racinaire. Un système de rhizotron aurait pu être imaginé, mais il n'aurait pas permis la reproduction de la microsphère entourant les racines, ce pour quoi l'aéroponie avait été sélectionnée. Dans tous les cas, il serait très intéressant de mettre en place un protocole pour tester l'effet de la gramine et de l'hordénine en terre, dans un environnement plus semblable à ce qui est utilisé en culture pour l'orge.

Un autre facteur ayant un potentiel impact sur les résultats est le fait que la plateforme fait parfois des arrêts (peu fréquents mais tout de même présents). Effectivement, lors de ces événements, les racines à côté du scanner se retrouvent dans un environnement plus sec que les autres, ce qui modifie potentiellement leur vitesse de croissance. Il est à noter que très peu d'arrêts ont eu lieu lors de l'expérience 7, alors que beaucoup ont eu lieu au cours de

l'expérience 6. Pour les 5 premières expériences, il n'y a eu que très rarement des arrêts de la pompe à solution nutritive, et donc très peu d'épisodes de sécheresse. Aucune solution facilement accessible n'aurait permis d'éviter ces événements, si ce n'est la minutie, la bonne pratique expérimentale et les connaissances acquises par le travail. Un exemple d'automatisme mis en place durant les expériences sur les petits bacs aéroponiques est le fait de vérifier très régulièrement le niveau de solution nutritive des bacs. Effectivement, lors des jours de forte chaleur, la solution avait tendance à s'évaporer / à être aspirée par les plantes tellement vite qu'il n'en restait parfois qu'un petit fond, ne permettant pas à la pompe de fonctionner optimalement et de brumiser correctement les racines. Tenir compte de ce phénomène a permis de sauver plusieurs expériences. Un autre automatisme mis en place durant ce mémoire est le fait de manipuler avec énormément de précaution les languettes de plantules lors des prises de mesures. Effectivement, il est arrivé que des languettes tombent, ou soient manipulées peu délicatement, occasionnant des morts auprès des plantes.

Un dernier élément à souligner pour son potentiel impact sur certaines expériences est le fait que les solutions toxiques (solutions nutritives contenant les produits) ont été réutilisées entre certaines expériences, et ce pour deux raisons. La première est le prix des produits. Effectivement, l'achat de gramine et d'hordénine est très coûteux, et préparer des solutions nutritives implémentées de produit pour une plateforme pouvant contenir jusqu'à 150 L de solution (pour les deux bacs) devient vite extrêmement cher. La deuxième raison est le fait que durant l'expérience, il est très peu probable que la concentration des produits toxiques diminue significativement dans les solutions. Effectivement, la quantité de produit potentiellement utilisée par la plante est infiniment faible. En considérant le prix des produits et leurs concentrations, réutiliser les solutions toxiques était un choix stratégique.

Outre ces perspectives d'amélioration des expériences réalisées, d'autres aspects pourraient être considérés comme prometteurs. Par exemple, réitérer ces mêmes expériences sur une autre espèce (tel qu'une adventice) permettrait de comparer le taux de réaction à ces concentrations et d'évaluer l'avantage que l'orge aurait face aux adventices dans un champ où cette concentration de produit est présente. Comme dit précédemment, il serait également intéressant de faire le même type de tests sur d'autres variétés d'orge afin d'avoir une meilleure idée du contrôle génétique face à l'autotoxicité pour chacune. De plus, inclure des variétés rustiques dans les expériences permettrait de voir

Un élément qui, à terme, sera essentiel dans la recherche de potentiel allélopathique de l'orge pour éliminer les adventices est la production de gramine et d'hordénine par les racines. Il serait fort intéressant de pouvoir quantifier la production de gramine et d'hordénine chez les variétés pour avoir une idée de celles en produisant le plus. De cette manière, il y aura une comparaison possible entre les variétés résistant le mieux aux produits et celles en produisant le plus.

Pour finir, malgré la complexité de la réponse observée et des différences entre variétés, beaucoup de potentiel se cache dans ce type d'alternative contre les adventices et les applications possibles sont nombreuses dans le domaine des bioherbicides.

9. Bibliographie

a. Références

AEROPONIC | Lexico. (2022). Lexico Dictionaries | English.

<https://www.lexico.com/definition/aeroponic> consulté le 24/05/2022.

Argandoña, V. H., Zuñiga, G. E., & Corcuera, L. J. (1987). Distribution of gramine and hydroxamic acids in barley and wheat leaves. *Phytochemistry*, 26(7), 1917–1918.

[https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)81728-8](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)81728-8)

Badr, A., M, K., Sch, R., Rabey, H. E., Effgen, S., Ibrahim, H. H., Pozzi, C., Rohde, W., & Salamini, F. (2000). On the Origin and Domestication History of Barley (*Hordeum vulgare*). *Molecular Biology and Evolution*, 17(4), 499–510.

<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026330>

Baudouin, G., Tillequin, F., Koch, M., Pusset, J., & Sévenet, T. (1981). Plantes de Nouvelle-Calédonie. LXXIII. Alcaloïdes de *Dutailleya oreophila* et de *Dutailleya drupacea*. *Journal of Natural Products*, 44(5), 546–550. <https://doi.org/10.1021/np50017a006>

Birkett, M. A., Chamberlain, K., Hooper, A. M., & Pickett, J. A. (2002). Does allelopathy offer real promise for practical weed management and for explaining rhizosphere interactions involving higher plants? In D. S. Powlson, G. L. Bateman, K. G. Davies, J. L. Gaunt, & P. R. Hirsch (Eds.), *Interactions in the Root Environment: An Integrated Approach* (pp. 31–39). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-010-0566-1_4

Bouhaouel, I., Gfeller, A., Fauconnier, M.-L., Rezgui, S., Slim Amara, H., & du Jardin, P. (2015). Allelopathic and autotoxicity effects of barley (*Hordeum vulgare* L. ssp. *Vulgare*) root exudates. *BioControl*, 60(3), 425–436. <https://doi.org/10.1007/s10526-014-9634-3>

Bullock, D. G. (1992). Crop rotation. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 11(4), 309–326. <https://doi.org/10.1080/07352689209382349>

Bulpa, Renaud. *Autotoxic response of barley to hordenine and gramine*. Faculté des bioingénieurs, Université catholique de Louvain, 2022. Prom. : Draye, Xavier.

Cheeke, P. R. (Ed.). (1989). *Toxicants of plant origin*. CRC Press.

Corcuera, L. J. (1993). Biochemical basis for the resistance of barley to aphids. *Phytochemistry*, 33(4), 741–747. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(93\)85267-U](https://doi.org/10.1016/0031-9422(93)85267-U)

Cordeau, S. (2010). Conséquences de la mise en place des bandes enherbées sur l'évolution de la flore adventice. Unité de Bourgogne.

- Cordeau, S., & Moreau, D. (2017). Gestion des adventices au moyen des cultures intermédiaires multi-services: Potentiels et limites. <https://doi.org/10.15454/1.5174075019109001E12>
- Dicke, M., & Baldwin, I. T. (2010). The evolutionary context for herbivore-induced plant volatiles: Beyond the 'cry for help.' *Trends in Plant Science*, *15*(3), 167–175. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2009.12.002>
- Draper, N. R. & Smith, H. *Applied Regression Analysis*. John Wiley & Sons, 1998.
- Fried, G., Ehret, P., Mottet, M., & Ducasse-Cournon, A.-M. (2019). Survey on the spread and control options of Giant Ragweed in the Occitanie region (France).
- Gharde, Y., Singh, P. K., Dubey, R. P., & Gupta, P. K. (2018). Assessment of yield and economic losses in agriculture due to weeds in India. *Crop Protection*, *107*, 12–18. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2018.01.007>
- Grain production worldwide by type 2021/22*. (2022). Statista. <https://www.statista.com/statistics/263977/world-grain-production-by-type/> consulté le 20/05/2022.
- Hapke, H. J., & Strathmann, W. (1995). Pharmacological effects of hordenine. *DTW. Deutsche tierärztliche Wochenschrift*, *102*(6), 228–232.
- Hasanuzzaman, M., Mohsin, S. M., Bhuyan, M. H. M. B., Bhuiyan, T. F., Anee, T. I., Masud, A. A. C., & Nahar, K. (2020). Phytotoxicity, environmental and health hazards of herbicides: Challenges and ways forward. In *Agrochemicals Detection, Treatment and Remediation* (pp. 55–99). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-103017-2.00003-9>
- Hierro, J. L., & Callaway, R. M. (2021). The Ecological Importance of Allelopathy. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, *52*(1), 25–45. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-051120-030619>
- Hordeum vulgare* L. (n.d.). http://ecoport.org/ep?Plant=1232&entityType=PL****&entityDisplayCategory=full consulté le 20/05/2022.
- Indole derivative*. (n.d.). [Elemental Biomarker]. Early Detection Research Network. <https://edrn.nci.nih.gov/data-and-resources/biomarkers/indole-derivative> consulté le 21/05/2022.
- International Allelopathy Society*. (n.d.). International Allelopathy Society. <https://allelopathy-society.osupytheas.fr/> consulté le 17/05/2022.

- International Union of Pure and Applied Chemistry*. (2022). IUPAC | International Union of Pure and Applied Chemistry. <https://iupac.org/> consulté le 27/05/2022.
- Jacquemart, A.-L., & Descamps, C. (2019). *Flore écologique de Belgique* (EDITIONS AVERBODE | ERASME S.A.).
- James, T. K., Ghanizadeh, H., Harrington, K. C., & Bolan, N. S. (2022). The leaching behaviour of herbicides in cropping soils amended with forestry biowastes. *Environmental Pollution*, 119466. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119466>
- Kanehisa, K., Tsumuki, H., Kawada, K., & Rustamani, M. A. (1990). Relations of Gramine Contents and Aphid Populations on Barley Lines. *Applied Entomology and Zoology*, 25(2), 251–259. <https://doi.org/10.1303/aez.25.251>
- Ke, S., Shi, L., Cao, X., Yang, Q., Liang, Y., & Yang, Z. (2012). Heterocycle-functional gramine analogues: Solvent- and catalyst-free synthesis and their inhibition activities against cell proliferation. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 54, 248–254. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2012.05.003>
- Kinghorn, A. D., Falk, H., Gibbons, S., Kobayashi, J., Asakawa, Y., & Liu, J.-K. (Eds.). (2020). *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products 112* (Vol. 112). Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-52966-6>
- Kong, C., Hu, F., Xu, X., Zhang, M., & Liang, W. (2005). Volatile Allelochemicals in the Ageratum conyzoides Intercropped Citrus Orchard and their Effects on Mites Amblyseius newsami and Panonychus citri. *Journal of Chemical Ecology*, 31(9), 2193–2203. <https://doi.org/10.1007/s10886-005-6085-4>
- Kremer, R., & Moncef, B.-H. (2009). Allelopathic Plants. 19. Barley (*Hordeum vulgare* L). 24.
- Lebecque, S. (2019). Étude des interactions de molécules phytotoxiques avec des modèles membranaires inspirés de la membrane plasmique végétale. UNIVERSITÉ DE LIÈGE - GEMBLOUX AGRO-BIO TECH.
- Liu, D. L., & Lovett, J. V. (1993). Biologically active secondary metabolites of barley. II. Phytotoxicity of barley allelochemicals. *Journal of Chemical Ecology*, 19(10), 2231–2244. <https://doi.org/10.1007/BF00979660>
- Lovett, J. V., Hault, A. H. C., & Christen, O. (1994). Biologically active secondary metabolites of barley. IV. Hordenine production by different barley lines. *Journal of Chemical Ecology*, 20(8), 1945–1954. <https://doi.org/10.1007/BF02066235>
- Lu, X., Lu, F., Yu, J., Xue, X., Jiang, H., Jiang, L., & Yang, Y. (2021). Gramine promotes functional recovery after spinal cord injury via ameliorating microglia activation. *Journal of*

- Cellular and Molecular Medicine*, 25(16), 7980–7992.
<https://doi.org/10.1111/jcmm.16728>
- Mauvaises herbes*. (2021). <http://www.omafra.gov.on.ca/french/crops/facts/weedman.htm> consulté le 17/05/2022.
- Merck | Belgium | Life Science Products & Service Solutions. (2023).
<https://www.sigmaaldrich.com/BE/en>
- Milberg, P., & Hallgren, E. (2004). Yield loss due to weeds in cereals and its large-scale variability in Sweden. *Field Crops Research*, 86(2–3), 199–209.
<https://doi.org/10.1016/j.fcr.2003.08.006>
- Montier, L. (2021). Les métabolites secondaires des plantes et champignons prohibés dans le contrôle antidopage chez le cheval. Université Paul-Sabatier de Toulouse.
- Muller, C. H., Muller, W. H., & Haines, B. L. (1964). Volatile Growth Inhibitors Produced by Aromatic Shrubs. *Science*, 143(3605), 471–473.
<https://doi.org/10.1126/science.143.3605.471>
- Overland, L. (1966). The role of allelopathic substances in the “smother crop” barley. *American Journal of Botany*, 53(5), 423–432. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1966.tb07355.x>
- Peatfoam | Peatfoam Growing Medium. <https://www.peatfoam.com/> consulté le 13/11/2022.
- Plant phenotyping facility. (n.d.). UCLouvain. <https://uclouvain.be/en/research-institutes/eli/elia/rootphair.html> consulté le 24/05/2022
- Popp, J., Petó, K., & Nagy, J. (2013). Pesticide productivity and food security. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 33(1), 243–255.
<https://doi.org/10.1007/s13593-012-0105-x>
- Quartarone, G., Ronchin, L., Vavasori, A., Tortato, C., & Bonaldo, L. (2012). Inhibitive action of gramine towards corrosion of mild steel in deaerated 1.0M hydrochloric acid solutions. *Corrosion Science*, 64, 82–89. <https://doi.org/10.1016/j.corsci.2012.07.008>
- Ritter, E., Angulo, B., Riga, P., Herrán, C., Reloso, J., & San Jose, M. (2001). Comparison of hydroponic and aeroponic cultivation systems for the production of potato minitubers. *Potato Research*, 44(2), 127–135. <https://doi.org/10.1007/BF02410099>
- Singh, H. P., Batish, D. R., & Kohli, R. K. (1999). Autotoxicity: Concept, Organisms, and Ecological Significance. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 18(6), 757–772.
<https://doi.org/10.1080/07352689991309478>

- Smith, T. A. (1977). Phenethylamine and related compounds in plants. *Phytochemistry*, 16(1), 9–18. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(77\)83004-5](https://doi.org/10.1016/0031-9422(77)83004-5)
- Tremblin, G., & Marouf, A. (2021). *Abrégé de biologie végétale appliquée*. EDP Sciences. <https://doi.org/10.1051/978-2-7598-2565-3>
- Tukey, H. B. (1969). Implications of allelopathy in agricultural plant science. *The Botanical Review*, 35(1), 1–16. <https://doi.org/10.1007/BF02859885>
- Ullrich, S. E. (Ed.). (2011). Barley, production, improvement, and uses. Wiley-Blackwell.
- VWR, Part of Avantor - Distributeur de fournitures scientifiques et de produits chimiques. <https://be.vwr.com/store/> consulté le 12/11/2022.
- Wang, J.-H., Chen, T., & Lin, W.-X. (2013). Plant allelopathy types and their application in agriculture. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 21, 1173–1183. <https://doi.org/10.3724/SP.J.1011.2013.01173>
- Yoshida, H., Tsumuki, H., Kanehisa, K., & J. Corcuera, L. (1993). Release of gramine from the surface of barley leaves. *Phytochemistry*, 34(4), 1011–1013. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)90704-0](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)90704-0)
- Zhou, J.-W., Luo, H.-Z., Jiang, H., Jian, T.-K., Chen, Z.-Q., & Jia, A.-Q. (2018). Hordenine: A Novel Quorum Sensing Inhibitor and Antibiofilm Agent against *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(7), 1620–1628. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b05035>
- Zimdahl, R. L. (2018). Allelopathy. In *Fundamentals of Weed Science* (pp. 253–270). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811143-7.00009-3>

b. Figures et tableaux

Figure 1 : inspirée de « Birkett, M. A., Chamberlain, K., Hooper, A. M., & Pickett, J. A. (2002). Does allelopathy offer real promise for practical weed management and for explaining rhizosphere interactions involving higher plants? In D. S. Powlson, G. L. Bateman, K. G. Davies, J. L. Gaunt, & P. R. Hirsch (Éds.), *Interactions in the Root Environment: An Integrated Approach* (p. 31-39). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-010-0566-1_4 ».

Figure 2 : Thomé, O. W., & Migula, W. (1886). *Flora von Deutschland : Österreich und der Schweiz*. [s.n.]. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.5360>.

Figure 3 : *inspirée de* « Lebecque, S. (2019). Étude des interactions de molécules phytotoxiques avec des modèles membranaires inspirés de la membrane plasmique végétale. UNIVERSITÉ DE LIÈGE - GEMBLoux AGRO-BIO TECH ».

Figure 4 : *inspirée de* « : Horinouchi, S., Ueda, K., Nakayama, J., & Ikeda, T. (2010). Cell-to-Cell Communications among Microorganisms. In *Comprehensive Natural Products II* (p. 283-337). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-008045382-8.00098-8> ».

Figure 5 : Larsson, K. A. E., Saheed, S. A., Gradin, T., Delp, G., Karpinska, B., Botha, C. E. J., & Jonsson, L. M. V. (2011). Differential regulation of 3-aminomethylindole/N-methyl-3-aminomethylindole N-methyltransferase and gramine in barley by both biotic and abiotic stress conditions. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49(1), 96-102. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.10.005>.

Figure 6 : *inspirée de* « Cassán, F., Vanderleyden, J., & Spaepen, S. (2014). Physiological and Agronomical Aspects of Phytohormone Production by Model Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) Belonging to the Genus *Azospirillum*. *Journal of Plant Growth Regulation*, 33(2), 440–459. <https://doi.org/10.1007/s00344-013-9362-4> ».

Figure 7 : *inspirée de* « Lebecque, S. (2019). Étude des interactions de molécules phytotoxiques avec des modèles membranaires inspirés de la membrane plasmique végétale. UNIVERSITÉ DE LIÈGE - GEMBLoux AGRO-BIO TECH ».

Figure 8 : *inspirée de* « Tsoucaris, G. (1961). Etude de la structure de quelques composés de l'ammonium quaternaire. I. Structure du chlorhydrate de β -phényléthylamine. *Acta Crystallographica*, 14(9), 909-914. <https://doi.org/10.1107/S0365110X61002679> ».

Figure 9 : Montier, L. (2021). Les métabolites secondaires des plantes et champignons prohibés dans le contrôle antidopage chez le cheval. Université Paul-Sabatier de Toulouse

Figure 10 : *inspirée de* « Peterson, L. A., & Krueger, A. R. (1988). An Intermittent Aeroponics System. *Crop Science*, 28(4), 712-713. <https://doi.org/10.2135/cropsci1988.0011183X002800040033x> ».

Figure 11 : *inspirée de* la plateforme RootPhAir de l'UCLouvain.

10. Annexes

a. Annexe 1 : Liste des variétés utilisées pour l'expérience 7

Les initiales GMI désignent le Gregor Mendel Institute. Les graines provenant de là-bas étaient prévues pour le projet EPPN 2020 et ont été transférées vers l'UCLouvain pour le mémoire de Renaud Bulpa. Ces graines provenaient initialement du laboratoire de Daniel Koenig's, à l'Université de Riverside, aux États-Unis.

Nom de variété	#	ENTRYCODE	Origine	Date de production
Algerian	1	HV01	GMI	2018
Alpha	2	HV02	GMI	2018
Arequipa	3	HV03	GMI	2018
Atlas	4	HV04	GMI	2018
California Mariout	5	HV05	GMI	2018
Club Mariout	6	HV06	GMI	2018
Everest	7	HV07	GMI	2018
Flynn	8	HV08	GMI	2018
Glabron	9	HV09	GMI	2018
Golden Pheasant	10	HV10	GMI	2018
Good Delta	11	HV11	GMI	2018
Han River	12	HV12	GMI	2018
Hannechen	13	HV13	GMI	2018
Horn	14	HV14	GMI	2018
Lion	15	HV15	GMI	2017
Lyallpur	16	HV16	GMI	2017
Maison Carre	17	HV17	GMI	2018
Manchuria	18	HV18	GMI	2018
Meloy	19	HV19	GMI	2017
Minia	20	HV20	GMI	2018
Multan	21	HV21	GMI	2017
Oderbrucker	22	HV22	GMI	2018
Orel	23	HV23	GMI	2018
Palmella Blue	24	HV24	GMI	2018
Sandrel	25	HV25	GMI	2018
Trebi	26	HV26	GMI	2018
White Smyrna	27	HV27	GMI	2018
Wisconsin Winter	28	HV28	GMI	2018
Morex	29	HVCTL01	GMI	2018
RGT Planet	30	HVCTL02	ECOSEM sprl	2018

b. Annexe 2 : Fiche de préparation de la solution nutritive Hewitt

Fabrication de s° mères et mise en solution pour l'obtention de la solution d'Hewitt

Ordre de mise en s° fille	Molécule	Attention à ...	Poids moléculaire	mM (milliMoles par litre)	Atome recherché	Dilution	Force (?)	g à mettre pour 1L de s° mère	g à mettre pour 0,5L de s° mère	Pris pour une s° fille d'1L	Pris pour une s° fille de 20L	g/100L de s° fille	mM (après dilution?)	g/L ajusté pour un volume final de 20,120L
1	KNO ₃	Agiter + chauffer à 50°C + ne pas ranger la s° mère au frais!!!	101,1 g	4	K et N	0,001	0,5	202,200 g	101,1 g	1 ml	20 ml	20,22 g	2	20,413 g
2	Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O	Ranger au frais	236,14 g	4	Ca et N	0,001	0,5	472,280 g	236,4 g	1 ml	20 ml	47,228 g	2	475,114 g
4	MgSO ₄ · 7H ₂ O	Ranger au frais	246,36 g	1,5	Mg et S	0,001	0,5	184,770 g	92,385 g	1 ml	20 ml	18,477 g	0,75	185,879 g
3	NaH ₂ PO ₄ · 2H ₂ O	Ranger au frais	156,01 g	1,33	Na et P	0,001	0,5	103,747 g	51,8735 g	1 ml	20 ml	10,374665 g	0,665	104,369 g
6	FeEDTANa	Ranger au frais	367,05 g	0,1	Fe	0,001	0,5	18,353 g	9,1765 g	1 ml	20 ml	1,83525 g	0,05	18,463 g
	MnCl ₂ · 4H ₂ O	Ranger au frais	197,9 g	0,01	Mn	0,001	0,5	0,990 g	0,495 g			0,09895 g	0,005	0,995 g
	CuSO ₄ · 5H ₂ O	Ranger au frais	249,7 g	0,001	Cu	0,001	0,5	0,125 g	0,0625 g			0,012485 g	0,0005	0,126 g
5	ZnSO ₄ · 7H ₂ O	Ranger au frais	287,6 g	0,001	Zn	0,001	0,5	0,144 g	0,072 g	1 ml	20 ml	0,01438 g	0,0005	0,145 g
	H ₃ BO ₃	Ranger au frais	61,83 g	0,05	B	0,001	0,5	1,546 g	0,773 g			0,154575 g	0,025	1,555 g
	NaCl	Ranger au frais	58,44 g	0,1	Na et Cl	0,001	0,5	2,922 g	1,461 g			0,2922 g	0,05	2,940 g
	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄	Ranger au frais	1235,85 g	7,14E-05	Mo	0,001	0,5	0,044 g	0,022 g			0,00441375 g	3,57 E-05	0,044 g
7	Na ₂ SiO ₃ · 5H ₂ O	Rajouter dans la s° fille quand elle est finie et sur le point d'être utilisée	212,1 g	1,2	Si			2,545 g pour 20L de s. f. (feuille originale) ==> donc 0,1272 g/L de s° fille				12,72 g		

On fait toutes les solutions mères (colonne g à mettre pour 1L de s° mère) puis on met 1ml de chaque solution mère pour chaque litre de solution fille désiré. Les solutions mères DOIVENT être mises dans l'ordre indiqué. Le pH final attendu est d'environ 7 (feuille d'origine) et est corrigé à l'aide de HCl et de NaOH (après l'ajout de Na₂SiO₃ · 5H₂O). (Abréviation : solution = s°)

c. Annexe 3 : Protocole de rinçage de la plateforme RootPhAir

Processus pour passer d'une solution toxique à une solution nutritive sur la plateforme RootPhAir.

Le but de ce protocole est de faciliter le changement de solution lors de l'usage de la plateforme, en particulier si cette solution a un effet sur les plantes placées dans la plateforme. Deux points d'attention étaient à respecter : la solution toxique coûtait cher, donc on voulait la récupérer, et il ne fallait plus que les quantités de molécules toxiques restantes dans la plateforme puissent influencer les plantes (négativement ou positivement). Le protocole reste valable si la solution toxique doit être jetée vu que cette solution doit être évacuée par bidons.

Matériel à disposition :

- Bidons où la solution toxique sera recueillie
- Bidons de solution nutritive prête à l'emploi (environ 75L par Bac)
- Petite pompe de type « aquarium » pour vider les bacs de solution nutritive + rallonge
- Ramassettes + seau de 10 L
- Seringue + fin tuyau flexible mis sur l'embout (de la seringue) + petit bac plat
- Eau distillée + tuyau

Étapes de changement de solution (dans l'ordre d'action) :

- 1) Mettre la petite pompe dans le bac gris de solution nutritive de la plateforme, en mettant le tuyau de sortie dans les bidons vides prévus pour la solution toxique. Une fois que tout est en place, brancher la rallonge et allumer la pompe. Laisser les bacs se vider lentement (prend du temps mais attention à ne pas laisser les bidons déborder !). Bien plus tard, lorsque les bacs sont vides, arrêter la pompe et finir à la ramassette (si besoin). Attention à bien couvrir la peau si la solution est toxique.
- 2) Décocher le « aeroponics active » sur l'interface informatique de la plateforme (pour le bon bac !). Ceci arrête la pompe, ce qui fait que les plantes ne sont plus brumisées et qu'elles souffriront bientôt de stress hydrique. Il faut donc se dépêcher.
- 3) Fermer la vanne bleue en bas de la grosse pompe de la plateforme (tuyau partant du bac de solution nutritive et arrivant à la pompe, et vanne la plus proche de la pompe).

- 4) Sur la grosse pompe :
 - a) Fermer les vannes bleues sur le tuyau reliant le bac de solution à la pompe en passant à travers les deux filtres gris.
 - b) Vider les deux filtres gris (en récupérant idéalement la solution toxique) et les remplir d'eau déminéralisée puis les refermer en s'assurant bien que les joints sont au bon endroit (extérieur des 3 petites piques) et que le cylindre central est bien centré (ou il sera écrasé et donc cassé).
 - c) Ouvrir le bouchon noir en haut de la grosse pompe (à l'aide d'un tournevis, si besoin).
 - d) Placer le tuyau de la seringue dans le trou du dessus de la grosse pompe, jusqu'au fond du réservoir, entre les hélices, et aspirer une seringue complète. Une fois la seringue pleine, la mettre à un niveau physiquement inférieur à celui de la pompe (= par terre, dans le bac plat) et ouvrir la seringue pour laisser la solution toxique couler dans le bac (effet siphon). On vide ainsi tout (idéalement) l'intérieur de la grosse pompe. Cette étape peut prendre un peu de temps.
- 5) Dans la plateforme, défaire les bouchons de fin de tuyau de brumisation (x6) en faisant attention à ne perdre aucune pièce (joint + parties du bouchon).
- 6) Lever le distributeur de tuyau (de l'autre côté des tuyaux, à travers le trou au-dessus des bacs de solution nutritive) pour que la solution s'écoule un maximum hors des tuyaux.
- 7) Lever le gros tuyau sur le côté de la plateforme (tuyau bouché qui va vers le sterfput à partir des bacs de solution nutritive). Idéalement, ouvrir un peu le bouchon quand le tuyau est levé pour faciliter la descente de la solution, puis refermer une fois que l'appel d'air est passé.
- 8) Une fois que tout est vide, commencer à remplir les grands bacs gris à l'aide du tuyau de solution déminéralisée (possibilité de bloquer l'embout pour que l'eau coule toute seule).
- 9) Refermer les 6 bouchons au bout des tuyaux de brumisation, à l'autre bout de la plateforme en faisant attention à bien remettre toutes les pièces et le joint.
- 10) Remplir au maximum la pompe de la plateforme en veillant à ne pas utiliser un jet trop fort et refermer le bouchon noir sur le dessus de la pompe (pas trop serré).
- 11) Sur l'interface informatique, mettre les paramètres « day » et « night » à 300 au lieu de 10 pour que la brumisation se fasse en continu et que le rinçage soit plus rapide. Attention à appuyer sur la touche enter lorsque le « 300 » est entré, ou le changement de paramètre ne se fera pas. Le paramètre correspondant au temps entre les brumisations peut aussi être changé et mis à une valeur proche de 1 (il n'accepte pas 0).

- 12) Rouvrir les vannes bleues et [le plus vite possible] réactiver le système de brumisation en cochant la case « aeroponics active » sur l'interface informatique.
- 13) Sur la pompe, vérifier que la pression atteint au moins les 5 bars. Si ce n'est pas le cas, cocher et décocher rapidement « aeroponics active » (une 20^{aine} de fois) puis rechecker la pression, et ainsi de suite jusqu'à ce que la pression ait atteint 5 bars. Si la pompe fait un bruit « bizarre » (crissement de gravier), ne pas la laisser tourner !
- 14) Le tuyau d'eau déminéralisée doit se trouver dans le bac gris le plus proche de la pompe du système, idéalement dans l'ouverture du tuyau allant vers la pompe (pour qu'un maximum de l'eau allant vers cette pompe soit de l'eau déminéralisée et non de la solution toxique).
- 15) Ouvrir le bout du gros tuyau (sous la plateforme) sortant du bac de solution de gauche (où la solution arrive de l'intérieur de la plateforme) et y attacher le tuyau en coude permettant à l'eau d'aller jusqu'au sterfput. Laisser l'eau couler dans le sterfput. Attention à ce que l'arrivée d'eau déminéralisée remplissant simultanément les bacs reste bien en face du tuyau de la pompe pour qu'elle n'aspire pas d'air !!! (L'eau sort donc par le bac de gauche vers le sterfput et entre donc dans le bac de droite par le tuyau d'eau déminéralisée). Le but est de renouveler un maximum la solution qui tourne pour baisser continuellement la concentration en molécules toxiques. Il arrive que la pompe prenne trop d'eau par rapport à ce que le tuyau fournit. Il y a 3 solutions : boucher le tuyau entre les deux bacs de solution (avec du papier tork par exemple) pour que l'eau sortant du tuyau n'aille pas directement vers l'autre bac et le sterfput, augmenter le temps entre les brumisations pour laisser le temps au bac de se remplir un peu et préparer des bidons d'eau déminéralisée, lesquels seront ajoutés quand le tuyau entre les bacs sera bouché.
- 16) Laisser ce système tourner pendant au moins 10 minutes, pour que toute trace de solution toxique soit éliminée et que tout le système soit complètement rincé à l'eau déminéralisée.

~ Après 10 min ~

- 17) Décocher « aeroponics active » sur l'interface informatique.
- 18) Fermer la vanne bleue à côté de la pompe du système sur le tuyau arrivant à la pompe ainsi que la vanne bleue entre les filtres gris et le bac gris (même tuyau), et couper l'eau déminéralisée.
- 19) Laisser les bacs se vider par le gros tuyau sous la plateforme dans le sterfput. Finir à la ramassette si besoin.

- 20) Une fois que les bacs sont vides, relever le gros tuyau, enlever le coude et refermer le bouchon.
- 21) Remplir les bacs gris de solution nutritive [neuve].
- 22) Rouvrir les vannes bleues et [le plus rapidement possible] recocher la case « aeroponics active » sur l'interface informatique.
- 23) Vérifier que la pression monte à 5 bars lorsque la pompe est active. Comme avant, faire des coups de béliers si la pompe n'atteint pas les 5 bars (20 cocher-décocher pour évacuer l'air). Si les 5 bars ne sont toujours pas atteints, décocher « aeroponics active », rouvrir la pompe et la remplir à nouveau. Il peut y avoir plusieurs problèmes possibles : de l'air est rentré dans la pompe durant le temps d'aller jusqu'au PC pour recocher « aeroponics active », le bouchon noir n'est pas assez bien serré, les joints des filtres ne sont pas bien placés, il n'y a pas assez de solution dans le bac de solution nutritive, etc.
- 24) Une fois que tout marche, remettre les paramètres « day » et « night » à 10 (puis enter) et le temps entre les projections à 120.
- 25) Une fois que tous les paramètres sont bons et que tout est en place, enlever les caches qui diminuaient l'évaporation de la solution (un devant la caméra, un sur le T1, et deux sur le T2).
- 26) Enfin, recocher « enable sequence » sur l'interface informatique pour le bon bac, et vérifier que tout se met bien en place.

d. Annexe 4 : Design expérimental du bac A et du bac B

Attention, les lignes colorées sont celles où il n'a pas été possible de mettre de graine, ceci à cause de problèmes de germination (malgré les graines prévues en trop).

BAC A :

UNIT	TANK	ROW	COL	ENTRY	ENTRYNAME	ENTRYCODE
A_07_5	A	7	5	1	Algerian	HV01
A_14_4	A	14	4	1	Algerian	HV01
A_16_1	A	16	1	1	Algerian	HV01
A_27_3	A	27	3	1	Algerian	HV01
A_31_2	A	31	2	1	Algerian	HV01
A_41_5	A	41	5	1	Algerian	HV01
A_48_3	A	48	3	1	Algerian	HV01
A_54_5	A	54	5	1	Algerian	HV01
A_61_4	A	61	4	1	Algerian	HV01
A_64_2	A	64	2	1	Algerian	HV01
A_72_2	A	72	2	1	Algerian	HV01
A_80_4	A	80	4	1	Algerian	HV01
A_88_1	A	88	1	1	Algerian	HV01
A_97_1	A	97	1	1	Algerian	HV01
A_07_1	A	7	1	2	Alpha	HV02
A_08_2	A	8	2	2	Alpha	HV02
A_18_5	A	18	5	2	Alpha	HV02
A_24_4	A	24	4	2	Alpha	HV02
A_33_5	A	33	5	2	Alpha	HV02
A_40_1	A	40	1	2	Alpha	HV02
A_45_2	A	45	2	2	Alpha	HV02
A_56_1	A	56	1	2	Alpha	HV02
A_57_2	A	57	2	2	Alpha	HV02
A_69_4	A	69	4	2	Alpha	HV02
A_72_3	A	72	3	2	Alpha	HV02
A_83_3	A	83	3	2	Alpha	HV02
A_89_5	A	89	5	2	Alpha	HV02
A_93_4	A	93	4	2	Alpha	HV02
A_04_3	A	4	3	3	Arequipa	HV03

A_12_4	A	12	4	3	Arequipa	HV03
A_20_2	A	20	2	3	Arequipa	HV03
A_23_1	A	23	1	3	Arequipa	HV03
A_30_5	A	30	5	3	Arequipa	HV03
A_41_2	A	41	2	3	Arequipa	HV03
A_46_2	A	46	2	3	Arequipa	HV03
A_52_3	A	52	3	3	Arequipa	HV03
A_60_5	A	60	5	3	Arequipa	HV03
A_67_4	A	67	4	3	Arequipa	HV03
A_71_4	A	71	4	3	Arequipa	HV03
A_80_1	A	80	1	3	Arequipa	HV03
A_87_1	A	87	1	3	Arequipa	HV03
A_93_3	A	93	3	3	Arequipa	HV03
A_01_5	A	1	5	4	Atlas	HV04
A_08_1	A	8	1	4	Atlas	HV04
A_17_1	A	17	1	4	Atlas	HV04
A_25_2	A	25	2	4	Atlas	HV04
A_33_2	A	33	2	4	Atlas	HV04
A_38_5	A	38	5	4	Atlas	HV04
A_44_4	A	44	4	4	Atlas	HV04
A_51_2	A	51	2	4	Atlas	HV04
A_59_1	A	59	1	4	Atlas	HV04
A_66_3	A	66	3	4	Atlas	HV04
A_76_4	A	76	4	4	Atlas	HV04
A_80_3	A	80	3	4	Atlas	HV04
A_87_3	A	87	3	4	Atlas	HV04
A_94_4	A	94	4	4	Atlas	HV04
A_01_3	A	1	3	5	California Mariout	HV05
A_12_2	A	12	2	5	California Mariout	HV05
A_15_3	A	15	3	5	California Mariout	HV05
A_28_5	A	28	5	5	California Mariout	HV05
A_29_4	A	29	4	5	California Mariout	HV05
A_39_5	A	39	5	5	California Mariout	HV05
A_49_3	A	49	3	5	California Mariout	HV05
A_50_4	A	50	4	5	California Mariout	HV05

A_57_1	A	57	1	5	California Mariout	HV05
A_65_1	A	65	1	5	California Mariout	HV05
A_76_2	A	76	2	5	California Mariout	HV05
A_84_1	A	84	1	5	California Mariout	HV05
A_85_2	A	85	2	5	California Mariout	HV05
A_94_5	A	94	5	5	California Mariout	HV05
A_02_5	A	2	5	6	Club Mariout	HV06
A_09_4	A	9	4	6	Club Mariout	HV06
A_20_3	A	20	3	6	Club Mariout	HV06
A_22_4	A	22	4	6	Club Mariout	HV06
A_32_1	A	32	1	6	Club Mariout	HV06
A_40_2	A	40	2	6	Club Mariout	HV06
A_47_3	A	47	3	6	Club Mariout	HV06
A_53_4	A	53	4	6	Club Mariout	HV06
A_62_2	A	62	2	6	Club Mariout	HV06
A_68_1	A	68	1	6	Club Mariout	HV06
A_76_5	A	76	5	6	Club Mariout	HV06
A_81_2	A	81	2	6	Club Mariout	HV06
A_87_5	A	87	5	6	Club Mariout	HV06
A_92_3	A	92	3	6	Club Mariout	HV06
A_02_4	A	2	4	7	Everest	HV07
A_09_1	A	9	1	7	Everest	HV07
A_18_3	A	18	3	7	Everest	HV07
A_28_2	A	28	2	7	Everest	HV07
A_30_4	A	30	4	7	Everest	HV07
A_39_1	A	39	1	7	Everest	HV07
A_44_1	A	44	1	7	Everest	HV07
A_56_4	A	56	4	7	Everest	HV07
A_57_5	A	57	5	7	Everest	HV07
A_70_3	A	70	3	7	Everest	HV07
A_71_2	A	71	2	7	Everest	HV07
A_79_2	A	79	2	7	Everest	HV07
A_85_5	A	85	5	7	Everest	HV07
A_95_5	A	95	5	7	Everest	HV07
A_07_4	A	7	4	8	Flynn	HV08

A_08_5	A	8	5	8	Flynn	HV08
A_21_1	A	21	1	8	Flynn	HV08
A_22_2	A	22	2	8	Flynn	HV08
A_33_3	A	33	3	8	Flynn	HV08
A_37_2	A	37	2	8	Flynn	HV08
A_46_4	A	46	4	8	Flynn	HV08
A_51_4	A	51	4	8	Flynn	HV08
A_61_1	A	61	1	8	Flynn	HV08
A_70_2	A	70	2	8	Flynn	HV08
A_71_3	A	71	3	8	Flynn	HV08
A_82_3	A	82	3	8	Flynn	HV08
A_91_1	A	91	1	8	Flynn	HV08
A_92_5	A	92	5	8	Flynn	HV08
A_07_3	A	7	3	9	Glabron	HV09
A_08_4	A	8	4	9	Glabron	HV09
A_19_1	A	19	1	9	Glabron	HV09
A_26_2	A	26	2	9	Glabron	HV09
A_31_5	A	31	5	9	Glabron	HV09
A_38_1	A	38	1	9	Glabron	HV09
A_48_2	A	48	2	9	Glabron	HV09
A_52_2	A	52	2	9	Glabron	HV09
A_63_4	A	63	4	9	Glabron	HV09
A_64_5	A	64	5	9	Glabron	HV09
A_75_1	A	75	1	9	Glabron	HV09
A_81_5	A	81	5	9	Glabron	HV09
A_89_3	A	89	3	9	Glabron	HV09
A_96_4	A	96	4	9	Glabron	HV09
A_01_4	A	1	4	10	Golden Pheasant	HV10
A_10_2	A	10	2	10	Golden Pheasant	HV10
A_20_1	A	20	1	10	Golden Pheasant	HV10
A_23_3	A	23	3	10	Golden Pheasant	HV10
A_32_4	A	32	4	10	Golden Pheasant	HV10
A_42_4	A	42	4	10	Golden Pheasant	HV10
A_43_5	A	43	5	10	Golden Pheasant	HV10
A_53_3	A	53	3	10	Golden Pheasant	HV10

A_59_3	A	59	3	10	Golden Pheasant	HV10
A_70_5	A	70	5	10	Golden Pheasant	HV10
A_71_1	A	71	1	10	Golden Pheasant	HV10
A_84_5	A	84	5	10	Golden Pheasant	HV10
A_91_2	A	91	2	10	Golden Pheasant	HV10
A_98_2	A	98	2	10	Golden Pheasant	HV10
A_01_1	A	1	1	11	Good Delta	HV11
A_09_3	A	9	3	11	Good Delta	HV11
A_18_2	A	18	2	11	Good Delta	HV11
A_25_1	A	25	1	11	Good Delta	HV11
A_34_5	A	34	5	11	Good Delta	HV11
A_36_2	A	36	2	11	Good Delta	HV11
A_44_3	A	44	3	11	Good Delta	HV11
A_53_2	A	53	2	11	Good Delta	HV11
A_62_4	A	62	4	11	Good Delta	HV11
A_68_4	A	68	4	11	Good Delta	HV11
A_77_3	A	77	3	11	Good Delta	HV11
A_78_4	A	78	4	11	Good Delta	HV11
A_90_5	A	90	5	11	Good Delta	HV11
A_97_5	A	97	5	11	Good Delta	HV11
A_06_2	A	6	2	12	Hannechen	HV13
A_13_3	A	13	3	12	Hannechen	HV13
A_17_2	A	17	2	12	Hannechen	HV13
A_28_1	A	28	1	12	Hannechen	HV13
A_29_3	A	29	3	12	Hannechen	HV13
A_41_3	A	41	3	12	Hannechen	HV13
A_49_2	A	49	2	12	Hannechen	HV13
A_50_1	A	50	1	12	Hannechen	HV13
A_59_4	A	59	4	12	Hannechen	HV13
A_69_5	A	69	5	12	Hannechen	HV13
A_74_5	A	74	5	12	Hannechen	HV13
A_81_4	A	81	4	12	Hannechen	HV13
A_89_1	A	89	1	12	Hannechen	HV13
A_98_5	A	98	5	12	Hannechen	HV13
A_04_1	A	4	1	13	Han River	HV12

A_13_5	A	13	5	13	Han River	HV12
A_19_3	A	19	3	13	Han River	HV12
A_27_2	A	27	2	13	Han River	HV12
A_35_4	A	35	4	13	Han River	HV12
A_36_5	A	36	5	13	Han River	HV12
A_45_4	A	45	4	13	Han River	HV12
A_53_1	A	53	1	13	Han River	HV12
A_60_3	A	60	3	13	Han River	HV12
A_65_3	A	65	3	13	Han River	HV12
A_77_2	A	77	2	13	Han River	HV12
A_78_1	A	78	1	13	Han River	HV12
A_89_4	A	89	4	13	Han River	HV12
A_94_2	A	94	2	13	Han River	HV12
A_06_5	A	6	5	14	Horn	HVXX
A_14_1	A	14	1	14	Horn	HVXX
A_15_2	A	15	2	14	Horn	HVXX
A_25_4	A	25	4	14	Horn	HVXX
A_35_3	A	35	3	14	Horn	HVXX
A_36_4	A	36	4	14	Horn	HVXX
A_47_2	A	47	2	14	Horn	HVXX
A_55_5	A	55	5	14	Horn	HVXX
A_58_3	A	58	3	14	Horn	HVXX
A_67_5	A	67	5	14	Horn	HVXX
A_73_1	A	73	1	14	Horn	HVXX
A_83_2	A	83	2	14	Horn	HVXX
A_85_3	A	85	3	14	Horn	HVXX
A_98_4	A	98	4	14	Horn	HVXX
A_05_1	A	5	1	15	Lion	HV15
A_10_1	A	10	1	15	Lion	HV15
A_20_5	A	20	5	15	Lion	HV15
A_28_3	A	28	3	15	Lion	HV15
A_35_5	A	35	5	15	Lion	HV15
A_42_3	A	42	3	15	Lion	HV15
A_43_2	A	43	2	15	Lion	HV15
A_54_2	A	54	2	15	Lion	HV15

A_60_2	A	60	2	15	Lion	HV15
A_67_1	A	67	1	15	Lion	HV15
A_75_4	A	75	4	15	Lion	HV15
A_79_5	A	79	5	15	Lion	HV15
A_90_3	A	90	3	15	Lion	HV15
A_95_4	A	95	4	15	Lion	HV15
A_04_4	A	4	4	16	Lyallpur	HV16
A_12_1	A	12	1	16	Lyallpur	HV16
A_15_5	A	15	5	16	Lyallpur	HV16
A_24_5	A	24	5	16	Lyallpur	HV16
A_30_2	A	30	2	16	Lyallpur	HV16
A_39_2	A	39	2	16	Lyallpur	HV16
A_48_1	A	48	1	16	Lyallpur	HV16
A_55_3	A	55	3	16	Lyallpur	HV16
A_62_3	A	62	3	16	Lyallpur	HV16
A_66_5	A	66	5	16	Lyallpur	HV16
A_72_4	A	72	4	16	Lyallpur	HV16
A_78_3	A	78	3	16	Lyallpur	HV16
A_91_4	A	91	4	16	Lyallpur	HV16
A_98_1	A	98	1	16	Lyallpur	HV16
A_04_2	A	4	2	17	Maison Carre	HV17
A_11_5	A	11	5	17	Maison Carre	HV17
A_21_2	A	21	2	17	Maison Carre	HV17
A_26_3	A	26	3	17	Maison Carre	HV17
A_34_2	A	34	2	17	Maison Carre	HV17
A_40_3	A	40	3	17	Maison Carre	HV17
A_47_1	A	47	1	17	Maison Carre	HV17
A_54_4	A	54	4	17	Maison Carre	HV17
A_60_1	A	60	1	17	Maison Carre	HV17
A_68_3	A	68	3	17	Maison Carre	HV17
A_74_4	A	74	4	17	Maison Carre	HV17
A_83_1	A	83	1	17	Maison Carre	HV17
A_88_5	A	88	5	17	Maison Carre	HV17
A_93_5	A	93	5	17	Maison Carre	HV17
A_03_5	A	3	5	18	Manchuria	HV18

A_10_5	A	10	5	18	Manchuria	HV18
A_21_5	A	21	5	18	Manchuria	HV18
A_27_1	A	27	1	18	Manchuria	HV18
A_35_2	A	35	2	18	Manchuria	HV18
A_36_1	A	36	1	18	Manchuria	HV18
A_46_3	A	46	3	18	Manchuria	HV18
A_55_1	A	55	1	18	Manchuria	HV18
A_63_3	A	63	3	18	Manchuria	HV18
A_64_4	A	64	4	18	Manchuria	HV18
A_73_4	A	73	4	18	Manchuria	HV18
A_82_4	A	82	4	18	Manchuria	HV18
A_91_3	A	91	3	18	Manchuria	HV18
A_92_2	A	92	2	18	Manchuria	HV18
A_03_3	A	3	3	19	Meloy	HV19
A_08_3	A	8	3	11	Good Delta	HV11
A_16_3	A	16	3	19	Meloy	HV19
A_28_4	A	28	4	19	Meloy	HV19
A_29_2	A	29	2	19	Meloy	HV19
A_37_5	A	37	5	19	Meloy	HV19
A_46_1	A	46	1	19	Meloy	HV19
A_52_4	A	52	4	19	Meloy	HV19
A_58_4	A	58	4	19	Meloy	HV19
A_70_1	A	70	1	19	Meloy	HV19
A_72_5	A	72	5	19	Meloy	HV19
A_81_1	A	81	1	19	Meloy	HV19
A_88_2	A	88	2	19	Meloy	HV19
A_97_2	A	97	2	19	Meloy	HV19
A_02_2	A	2	2	20	Minia	HV20
A_10_4	A	10	4	20	Minia	HV20
A_18_1	A	18	1	20	Minia	HV20
A_23_5	A	23	5	20	Minia	HV20
A_31_3	A	31	3	20	Minia	HV20
A_37_4	A	37	4	20	Minia	HV20
A_49_1	A	49	1	20	Minia	HV20
A_51_3	A	51	3	20	Minia	HV20

A_60_4	A	60	4	20	Minia	HV20
A_66_1	A	66	1	20	Minia	HV20
A_74_2	A	74	2	20	Minia	HV20
A_82_5	A	82	5	20	Minia	HV20
A_86_5	A	86	5	20	Minia	HV20
A_96_3	A	96	3	20	Minia	HV20
A_05_3	A	5	3	21	Multan	HV21
A_12_3	A	12	3	21	Multan	HV21
A_17_5	A	17	5	21	Multan	HV21
A_26_1	A	26	1	21	Multan	HV21
A_32_2	A	32	2	21	Multan	HV21
A_39_4	A	39	4	21	Multan	HV21
A_47_4	A	47	4	21	Multan	HV21
A_51_5	A	51	5	21	Multan	HV21
A_61_3	A	61	3	21	Multan	HV21
A_67_2	A	67	2	21	Multan	HV21
A_74_1	A	74	1	21	Multan	HV21
A_83_5	A	83	5	21	Multan	HV21
A_90_4	A	90	4	21	Multan	HV21
A_93_1	A	93	1	21	Multan	HV21
A_06_3	A	6	3	22	Oderbrucker	HV22
A_11_1	A	11	1	22	Oderbrucker	HV22
A_19_4	A	19	4	22	Oderbrucker	HV22
A_24_2	A	24	2	22	Oderbrucker	HV22
A_34_4	A	34	4	22	Oderbrucker	HV22
A_37_3	A	37	3	22	Oderbrucker	HV22
A_46_5	A	46	5	22	Oderbrucker	HV22
A_51_1	A	51	1	22	Oderbrucker	HV22
A_58_5	A	58	5	22	Oderbrucker	HV22
A_68_5	A	68	5	22	Oderbrucker	HV22
A_72_1	A	72	1	22	Oderbrucker	HV22
A_79_4	A	79	4	22	Oderbrucker	HV22
A_87_2	A	87	2	22	Oderbrucker	HV22
A_94_3	A	94	3	22	Oderbrucker	HV22
A_06_1	A	6	1	23	Orel	HV23

A_13_4	A	13	4	23	Orel	HV23
A_17_4	A	17	4	23	Orel	HV23
A_25_5	A	25	5	23	Orel	HV23
A_34_1	A	34	1	23	Orel	HV23
A_38_3	A	38	3	23	Orel	HV23
A_49_4	A	49	4	23	Orel	HV23
A_50_3	A	50	3	23	Orel	HV23
A_59_2	A	59	2	23	Orel	HV23
A_66_2	A	66	2	23	Orel	HV23
A_73_5	A	73	5	23	Orel	HV23
A_80_5	A	80	5	23	Orel	HV23
A_86_2	A	86	2	23	Orel	HV23
A_95_1	A	95	1	23	Orel	HV23
A_03_4	A	3	4	24	Palmella Blue	HV24
A_11_3	A	11	3	24	Palmella Blue	HV24
A_19_2	A	19	2	24	Palmella Blue	HV24
A_23_2	A	23	2	24	Palmella Blue	HV24
A_30_1	A	30	1	24	Palmella Blue	HV24
A_40_4	A	40	4	24	Palmella Blue	HV24
A_48_5	A	48	5	24	Palmella Blue	HV24
A_50_2	A	50	2	24	Palmella Blue	HV24
A_58_1	A	58	1	24	Palmella Blue	HV24
A_65_5	A	65	5	24	Palmella Blue	HV24
A_73_3	A	73	3	24	Palmella Blue	HV24
A_79_1	A	79	1	24	Palmella Blue	HV24
A_86_4	A	86	4	24	Palmella Blue	HV24
A_97_3	A	97	3	24	Palmella Blue	HV24
A_03_1	A	3	1	25	Sandrel	HV25
A_09_2	A	9	2	25	Sandrel	HV25
A_16_5	A	16	5	25	Sandrel	HV25
A_26_5	A	26	5	25	Sandrel	HV25
A_29_1	A	29	1	25	Sandrel	HV25
A_38_4	A	38	4	25	Sandrel	HV25
A_45_3	A	45	3	25	Sandrel	HV25
A_52_1	A	52	1	25	Sandrel	HV25

A_59_5	A	59	5	25	Sandrel	HV25
A_69_3	A	69	3	25	Sandrel	HV25
A_75_3	A	75	3	25	Sandrel	HV25
A_84_4	A	84	4	25	Sandrel	HV25
A_90_2	A	90	2	25	Sandrel	HV25
A_96_2	A	96	2	25	Sandrel	HV25
A_04_5	A	4	5	26	Trebi	HV26
A_11_2	A	11	2	26	Trebi	HV26
A_21_3	A	21	3	26	Trebi	HV26
A_22_1	A	22	1	26	Trebi	HV26
A_32_3	A	32	3	26	Trebi	HV26
A_42_2	A	42	2	26	Trebi	HV26
A_43_1	A	43	1	26	Trebi	HV26
A_52_5	A	52	5	26	Trebi	HV26
A_62_5	A	62	5	26	Trebi	HV26
A_65_4	A	65	4	26	Trebi	HV26
A_73_2	A	73	2	26	Trebi	HV26
A_79_3	A	79	3	26	Trebi	HV26
A_88_4	A	88	4	26	Trebi	HV26
A_96_1	A	96	1	26	Trebi	HV26
A_05_2	A	5	2	27	White Smyrna	HV27
A_14_3	A	14	3	27	White Smyrna	HV27
A_15_4	A	15	4	27	White Smyrna	HV27
A_27_4	A	27	4	27	White Smyrna	HV27
A_33_1	A	33	1	27	White Smyrna	HV27
A_38_2	A	38	2	27	White Smyrna	HV27
A_47_5	A	47	5	27	White Smyrna	HV27
A_50_5	A	50	5	27	White Smyrna	HV27
A_63_1	A	63	1	27	White Smyrna	HV27
A_67_3	A	67	3	27	White Smyrna	HV27
A_77_1	A	77	1	27	White Smyrna	HV27
A_82_2	A	82	2	27	White Smyrna	HV27
A_91_5	A	91	5	27	White Smyrna	HV27
A_92_4	A	92	4	27	White Smyrna	HV27
A_05_4	A	5	4	28	Wisconsin Winter	HV28

A_13_2	A	13	2	28	Wisconsin Winter	HV28
A_20_4	A	20	4	28	Wisconsin Winter	HV28
A_22_5	A	22	5	28	Wisconsin Winter	HV28
A_35_1	A	35	1	28	Wisconsin Winter	HV28
A_36_3	A	36	3	28	Wisconsin Winter	HV28
A_45_5	A	45	5	28	Wisconsin Winter	HV28
A_56_2	A	56	2	28	Wisconsin Winter	HV28
A_57_3	A	57	3	28	Wisconsin Winter	HV28
A_69_2	A	69	2	28	Wisconsin Winter	HV28
A_77_4	A	77	4	28	Wisconsin Winter	HV28
A_78_5	A	78	5	28	Wisconsin Winter	HV28
A_86_1	A	86	1	28	Wisconsin Winter	HV28
A_98_3	A	98	3	28	Wisconsin Winter	HV28
A_05_5	A	5	5	29	Morex	HVCTL1
A_06_4	A	6	4	29	Morex	HVCTL1
A_07_2	A	7	2	29	Morex	HVCTL1
A_13_1	A	13	1	29	Morex	HVCTL1
A_14_2	A	14	2	29	Morex	HVCTL1
A_14_5	A	14	5	29	Morex	HVCTL1
A_15_1	A	15	1	29	Morex	HVCTL1
A_16_4	A	16	4	29	Morex	HVCTL1
A_21_4	A	21	4	29	Morex	HVCTL1
A_22_3	A	22	3	29	Morex	HVCTL1
A_23_4	A	23	4	29	Morex	HVCTL1
A_24_3	A	24	3	29	Morex	HVCTL1
A_29_5	A	29	5	29	Morex	HVCTL1
A_30_3	A	30	3	29	Morex	HVCTL1
A_31_4	A	31	4	29	Morex	HVCTL1
A_37_1	A	37	1	29	Morex	HVCTL1
A_41_4	A	41	4	29	Morex	HVCTL1
A_42_1	A	42	1	29	Morex	HVCTL1
A_43_3	A	43	3	29	Morex	HVCTL1
A_44_5	A	44	5	29	Morex	HVCTL1
A_45_1	A	45	1	29	Morex	HVCTL1
A_53_5	A	53	5	29	Morex	HVCTL1

A_54_3	A	54	3	29	Morex	HVCTL1
A_55_2	A	55	2	29	Morex	HVCTL1
A_61_5	A	61	5	29	Morex	HVCTL1
A_62_1	A	62	1	29	Morex	HVCTL1
A_63_5	A	63	5	29	Morex	HVCTL1
A_64_3	A	64	3	29	Morex	HVCTL1
A_69_1	A	69	1	29	Morex	HVCTL1
A_70_4	A	70	4	29	Morex	HVCTL1
A_71_5	A	71	5	29	Morex	HVCTL1
A_75_2	A	75	2	29	Morex	HVCTL1
A_76_3	A	76	3	29	Morex	HVCTL1
A_78_2	A	78	2	29	Morex	HVCTL1
A_80_2	A	80	2	29	Morex	HVCTL1
A_84_2	A	84	2	29	Morex	HVCTL1
A_85_1	A	85	1	29	Morex	HVCTL1
A_85_4	A	85	4	29	Morex	HVCTL1
A_86_3	A	86	3	29	Morex	HVCTL1
A_95_2	A	95	2	29	Morex	HVCTL1
A_96_5	A	96	5	29	Morex	HVCTL1
A_97_4	A	97	4	29	Morex	HVCTL1
A_01_2	A	1	2	30	RGT Planet	HVCTL2
A_02_1	A	2	1	30	RGT Planet	HVCTL2
A_02_3	A	2	3	30	RGT Planet	HVCTL2
A_03_2	A	3	2	30	RGT Planet	HVCTL2
A_09_5	A	9	5	30	RGT Planet	HVCTL2
A_10_3	A	10	3	30	RGT Planet	HVCTL2
A_11_4	A	11	4	30	RGT Planet	HVCTL2
A_12_5	A	12	5	30	RGT Planet	HVCTL2
A_16_2	A	16	2	30	RGT Planet	HVCTL2
A_17_3	A	17	3	30	RGT Planet	HVCTL2
A_18_4	A	18	4	30	RGT Planet	HVCTL2
A_19_5	A	19	5	30	RGT Planet	HVCTL2
A_24_1	A	24	1	30	RGT Planet	HVCTL2
A_25_3	A	25	3	30	RGT Planet	HVCTL2
A_26_4	A	26	4	30	RGT Planet	HVCTL2

A_27_5	A	27	5	30	RGT Planet	HVCTL2
A_31_1	A	31	1	30	RGT Planet	HVCTL2
A_32_5	A	32	5	30	RGT Planet	HVCTL2
A_33_4	A	33	4	30	RGT Planet	HVCTL2
A_34_3	A	34	3	30	RGT Planet	HVCTL2
A_39_3	A	39	3	30	RGT Planet	HVCTL2
A_40_5	A	40	5	30	RGT Planet	HVCTL2
A_41_1	A	41	1	30	RGT Planet	HVCTL2
A_42_5	A	42	5	30	RGT Planet	HVCTL2
A_43_4	A	43	4	30	RGT Planet	HVCTL2
A_44_2	A	44	2	30	RGT Planet	HVCTL2
A_48_4	A	48	4	30	RGT Planet	HVCTL2
A_49_5	A	49	5	30	RGT Planet	HVCTL2
A_54_1	A	54	1	30	RGT Planet	HVCTL2
A_55_4	A	55	4	30	RGT Planet	HVCTL2
A_56_3	A	56	3	30	RGT Planet	HVCTL2
A_56_5	A	56	5	30	RGT Planet	HVCTL2
A_57_4	A	57	4	30	RGT Planet	HVCTL2
A_58_2	A	58	2	30	RGT Planet	HVCTL2
A_61_2	A	61	2	30	RGT Planet	HVCTL2
A_63_2	A	63	2	30	RGT Planet	HVCTL2
A_64_1	A	64	1	30	RGT Planet	HVCTL2
A_65_2	A	65	2	30	RGT Planet	HVCTL2
A_66_4	A	66	4	30	RGT Planet	HVCTL2
A_68_2	A	68	2	30	RGT Planet	HVCTL2
A_74_3	A	74	3	30	RGT Planet	HVCTL2
A_75_5	A	75	5	30	RGT Planet	HVCTL2
A_76_1	A	76	1	30	RGT Planet	HVCTL2
A_77_5	A	77	5	30	RGT Planet	HVCTL2
A_81_3	A	81	3	30	RGT Planet	HVCTL2
A_82_1	A	82	1	30	RGT Planet	HVCTL2
A_83_4	A	83	4	30	RGT Planet	HVCTL2
A_84_3	A	84	3	30	RGT Planet	HVCTL2
A_87_4	A	87	4	30	RGT Planet	HVCTL2
A_88_3	A	88	3	30	RGT Planet	HVCTL2

A_89_2	A	89	2	30	RGT Planet	HVCTL2
A_90_1	A	90	1	30	RGT Planet	HVCTL2
A_92_1	A	92	1	30	RGT Planet	HVCTL2
A_93_2	A	93	2	30	RGT Planet	HVCTL2
A_94_1	A	94	1	30	RGT Planet	HVCTL2
A_95_3	A	95	3	30	RGT Planet	HVCTL2
A_99_1	A	99	1	30	RGT Planet	HVCTL2
A_99_2	A	99	2	30	RGT Planet	HVCTL2
A_99_3	A	99	3	30	RGT Planet	HVCTL2
A_99_4	A	99	4	30	RGT Planet	HVCTL2
A_99_5	A	99	5	30	RGT Planet	HVCTL2

BAC B :

UNIT	TANK	ROW	COL	ENTRY	ENTRYNAME	ENTRYCODE
B_06_1	B	6	6	1	Algerian	HV01
B_10_2	B	10	7	1	Algerian	HV01
B_18_4	B	18	9	1	Algerian	HV01
B_27_1	B	27	6	1	Algerian	HV01
B_30_5	B	30	10	1	Algerian	HV01
B_37_1	B	37	6	1	Algerian	HV01
B_45_3	B	45	8	1	Algerian	HV01
B_56_2	B	56	7	1	Algerian	HV01
B_57_4	B	57	9	1	Algerian	HV01
B_66_2	B	66	7	1	Algerian	HV01
B_73_4	B	73	9	1	Algerian	HV01
B_79_3	B	79	8	1	Algerian	HV01
B_88_5	B	88	10	1	Algerian	HV01
B_95_3	B	95	8	1	Algerian	HV01
B_01_4	B	1	9	2	Alpha	HV02
B_12_1	B	12	6	2	Alpha	HV02
B_16_5	B	16	10	2	Alpha	HV02
B_24_2	B	24	7	2	Alpha	HV02
B_34_3	B	34	8	2	Alpha	HV02
B_41_4	B	41	9	2	Alpha	HV02

B_46_4	B	46	9	2	Alpha	HV02
B_53_1	B	53	6	2	Alpha	HV02
B_58_5	B	58	10	2	Alpha	HV02
B_66_1	B	66	6	2	Alpha	HV02
B_75_3	B	75	8	2	Alpha	HV02
B_81_5	B	81	10	2	Alpha	HV02
B_90_2	B	90	7	2	Alpha	HV02
B_95_2	B	95	7	2	Alpha	HV02
B_02_4	B	2	9	3	Arequipa	HV03
B_13_5	B	13	10	3	Arequipa	HV03
B_19_2	B	19	7	3	Arequipa	HV03
B_24_1	B	24	6	3	Arequipa	HV03
B_33_2	B	33	7	3	Arequipa	HV03
B_37_4	B	37	9	3	Arequipa	HV03
B_49_5	B	49	10	3	Arequipa	HV03
B_50_4	B	50	9	3	Arequipa	HV03
B_61_2	B	61	7	3	Arequipa	HV03
B_70_5	B	70	10	3	Arequipa	HV03
B_73_3	B	73	8	3	Arequipa	HV03
B_80_3	B	80	8	3	Arequipa	HV03
B_89_3	B	89	8	3	Arequipa	HV03
B_92_1	B	92	6	3	Arequipa	HV03
B_02_1	B	2	6	4	Atlas	HV04
B_11_4	B	11	9	4	Atlas	HV04
B_21_1	B	21	6	4	Atlas	HV04
B_22_2	B	22	7	4	Atlas	HV04
B_32_2	B	32	7	4	Atlas	HV04
B_39_5	B	39	10	4	Atlas	HV04
B_44_4	B	44	9	4	Atlas	HV04
B_54_3	B	54	8	4	Atlas	HV04
B_61_3	B	61	8	4	Atlas	HV04
B_65_2	B	65	7	4	Atlas	HV04
B_72_5	B	72	10	4	Atlas	HV04
B_84_5	B	84	10	4	Atlas	HV04
B_85_4	B	85	9	4	Atlas	HV04

B_94_3	B	94	8	4	Atlas	HV04
B_04_2	B	4	7	5	California Mariout	HV05
B_09_3	B	9	8	5	California Mariout	HV05
B_18_1	B	18	6	5	California Mariout	HV05
B_25_1	B	25	6	5	California Mariout	HV05
B_30_3	B	30	8	5	California Mariout	HV05
B_42_4	B	42	9	5	California Mariout	HV05
B_49_4	B	49	9	5	California Mariout	HV05
B_55_2	B	55	7	5	California Mariout	HV05
B_59_2	B	59	7	5	California Mariout	HV05
B_67_3	B	67	8	5	California Mariout	HV05
B_75_5	B	75	10	5	California Mariout	HV05
B_81_1	B	81	6	5	California Mariout	HV05
B_89_5	B	89	10	5	California Mariout	HV05
B_93_5	B	93	10	5	California Mariout	HV05
B_01_5	B	1	10	6	Club Mariout	HV06
B_10_1	B	10	6	6	Club Mariout	HV06
B_16_2	B	16	7	6	Club Mariout	HV06
B_27_3	B	27	8	6	Club Mariout	HV06
B_30_2	B	30	7	6	Club Mariout	HV06
B_40_5	B	40	10	6	Club Mariout	HV06
B_47_3	B	47	8	6	Club Mariout	HV06
B_52_2	B	52	7	6	Club Mariout	HV06
B_58_1	B	58	6	6	Club Mariout	HV06
B_70_3	B	70	8	6	Club Mariout	HV06
B_71_1	B	71	6	6	Club Mariout	HV06
B_79_5	B	79	10	6	Club Mariout	HV06
B_89_4	B	89	9	6	Club Mariout	HV06
B_96_4	B	96	9	6	Club Mariout	HV06
B_03_3	B	3	8	7	Everest	HV07
B_08_1	B	8	6	7	Everest	HV07
B_19_5	B	19	10	7	Everest	HV07
B_23_2	B	23	7	7	Everest	HV07
B_32_1	B	32	6	7	Everest	HV07
B_41_1	B	41	6	7	Everest	HV07

B_48_4	B	48	9	7	Everest	HV07
B_56_4	B	56	9	7	Everest	HV07
B_57_3	B	57	8	7	Everest	HV07
B_70_4	B	70	9	7	Everest	HV07
B_71_2	B	71	7	7	Everest	HV07
B_82_5	B	82	10	7	Everest	HV07
B_88_3	B	88	8	7	Everest	HV07
B_92_5	B	92	10	7	Everest	HV07
B_04_4	B	4	9	8	Flynn	HV08
B_13_3	B	13	8	8	Flynn	HV08
B_16_1	B	16	6	8	Flynn	HV08
B_27_4	B	27	9	8	Flynn	HV08
B_35_2	B	35	7	8	Flynn	HV08
B_40_2	B	40	7	8	Flynn	HV08
B_45_4	B	45	9	8	Flynn	HV08
B_53_5	B	53	10	8	Flynn	HV08
B_58_2	B	58	7	8	Flynn	HV08
B_68_5	B	68	10	8	Flynn	HV08
B_72_3	B	72	8	8	Flynn	HV08
B_83_1	B	83	6	8	Flynn	HV08
B_89_1	B	89	6	8	Flynn	HV08
B_98_3	B	98	8	8	Flynn	HV08
B_02_3	B	2	8	9	Glabron	HV09
B_12_4	B	12	9	9	Glabron	HV09
B_17_5	B	17	10	9	Glabron	HV09
B_28_1	B	28	6	9	Glabron	HV09
B_29_2	B	29	7	9	Glabron	HV09
B_38_1	B	38	6	9	Glabron	HV09
B_47_4	B	47	9	9	Glabron	HV09
B_55_4	B	55	9	9	Glabron	HV09
B_59_3	B	59	8	9	Glabron	HV09
B_67_2	B	67	7	9	Glabron	HV09
B_77_3	B	77	8	9	Glabron	HV09
B_78_5	B	78	10	9	Glabron	HV09
B_87_2	B	87	7	9	Glabron	HV09

B_94_5	B	94	10	9	Glabron	HV09
B_01_1	B	1	6	10	Golden Pheasant	HV10
B_09_4	B	9	9	10	Golden Pheasant	HV10
B_20_3	B	20	8	10	Golden Pheasant	HV10
B_24_5	B	24	10	10	Golden Pheasant	HV10
B_31_2	B	31	7	10	Golden Pheasant	HV10
B_38_3	B	38	8	10	Golden Pheasant	HV10
B_46_2	B	46	7	10	Golden Pheasant	HV10
B_56_1	B	56	6	10	Golden Pheasant	HV10
B_57_5	B	57	10	10	Golden Pheasant	HV10
B_66_3	B	66	8	10	Golden Pheasant	HV10
B_77_2	B	77	7	10	Golden Pheasant	HV10
B_78_4	B	78	9	10	Golden Pheasant	HV10
B_88_4	B	88	9	10	Golden Pheasant	HV10
B_95_1	B	95	6	10	Golden Pheasant	HV10
B_05_3	B	5	8	11	Good Delta	HV11
B_13_1	B	13	6	11	Good Delta	HV11
B_20_5	B	20	10	11	Good Delta	HV11
B_26_4	B	26	9	11	Good Delta	HV11
B_31_5	B	31	10	11	Good Delta	HV11
B_38_4	B	38	9	11	Good Delta	HV11
B_45_1	B	45	6	11	Good Delta	HV11
B_54_2	B	54	7	11	Good Delta	HV11
B_63_2	B	63	7	11	Good Delta	HV11
B_64_1	B	64	6	11	Good Delta	HV11
B_77_5	B	77	10	11	Good Delta	HV11
B_78_3	B	78	8	11	Good Delta	HV11
B_91_3	B	91	8	11	Good Delta	HV11
B_93_4	B	93	9	11	Good Delta	HV11
B_07_1	B	7	6	12	Hannechen	HV13
B_08_2	B	8	7	12	Hannechen	HV13
B_21_4	B	21	9	12	Hannechen	HV13
B_22_5	B	22	10	12	Hannechen	HV13
B_35_3	B	35	8	12	Hannechen	HV13
B_36_2	B	36	7	12	Hannechen	HV13

B_45_2	B	45	7	12	Hannechen	HV13
B_52_3	B	52	8	12	Hannechen	HV13
B_59_5	B	59	10	12	Hannechen	HV13
B_70_1	B	70	6	12	Hannechen	HV13
B_71_5	B	71	10	12	Hannechen	HV13
B_82_4	B	82	9	12	Hannechen	HV13
B_86_3	B	86	8	12	Hannechen	HV13
B_94_4	B	94	9	12	Hannechen	HV13
B_03_4	B	3	9	13	Han River	HV12
B_14_1	B	14	6	13	Han River	HV12
B_17_4	B	17	9	13	Han River	HV12
B_23_5	B	23	10	13	Han River	HV12
B_33_3	B	33	8	13	Han River	HV12
B_37_2	B	37	7	13	Han River	HV12
B_47_1	B	47	6	13	Han River	HV12
B_55_5	B	55	10	13	Han River	HV12
B_60_5	B	60	10	13	Han River	HV12
B_68_3	B	68	8	13	Han River	HV12
B_75_1	B	75	6	13	Han River	HV12
B_80_2	B	80	7	13	Han River	HV12
B_87_4	B	87	9	13	Han River	HV12
B_97_2	B	97	7	13	Han River	HV12
B_03_2	B	3	7	14	Horn	HVXX
B_13_4	B	13	9	14	Horn	HVXX
B_20_1	B	20	6	14	Horn	HVXX
B_27_2	B	27	7	14	Horn	HVXX
B_32_5	B	32	10	14	Horn	HVXX
B_40_1	B	40	6	14	Horn	HVXX
B_43_3	B	43	8	14	Horn	HVXX
B_51_5	B	51	10	14	Horn	HVXX
B_59_4	B	59	9	14	Horn	HVXX
B_65_3	B	65	8	14	Horn	HVXX
B_76_4	B	76	9	14	Horn	HVXX
B_83_5	B	83	10	14	Horn	HVXX
B_91_2	B	91	7	14	Horn	HVXX

B_92_3	B	92	8	14	Horn	HVXX
B_05_1	B	5	6	15	Lion	HV15
B_10_3	B	10	8	15	Lion	HV15
B_18_2	B	18	7	15	Lion	HV15
B_25_3	B	25	8	15	Lion	HV15
B_35_1	B	35	6	15	Lion	HV15
B_39_3	B	39	8	15	Lion	HV15
B_47_5	B	47	10	15	Lion	HV15
B_52_1	B	52	6	15	Lion	HV15
B_61_4	B	61	9	15	Lion	HV15
B_66_5	B	66	10	15	Lion	HV15
B_76_5	B	76	10	15	Lion	HV15
B_83_4	B	83	9	15	Lion	HV15
B_89_2	B	89	7	15	Lion	HV15
B_98_4	B	98	9	15	Lion	HV15
B_02_5	B	2	10	16	Lyallpur	HV16
B_12_3	B	12	8	16	Lyallpur	HV16
B_18_3	B	18	8	16	Lyallpur	HV16
B_23_4	B	23	9	16	Lyallpur	HV16
B_32_4	B	32	9	16	Lyallpur	HV16
B_36_1	B	36	6	16	Lyallpur	HV16
B_46_1	B	46	6	16	Lyallpur	HV16
B_51_3	B	51	8	16	Lyallpur	HV16
B_61_1	B	61	6	16	Lyallpur	HV16
B_67_5	B	67	10	16	Lyallpur	HV16
B_74_5	B	74	10	16	Lyallpur	HV16
B_82_2	B	82	7	16	Lyallpur	HV16
B_86_2	B	86	7	16	Lyallpur	HV16
B_98_2	B	98	7	16	Lyallpur	HV16
B_03_5	B	3	10	17	Maison Carre	HV17
B_11_5	B	11	10	17	Maison Carre	HV17
B_20_4	B	20	9	17	Maison Carre	HV17
B_24_4	B	24	9	17	Maison Carre	HV17
B_33_1	B	33	6	17	Maison Carre	HV17
B_42_3	B	42	8	17	Maison Carre	HV17

B_49_1	B	49	6	17	Maison Carre	HV17
B_50_2	B	50	7	17	Maison Carre	HV17
B_58_3	B	58	8	17	Maison Carre	HV17
B_69_4	B	69	9	17	Maison Carre	HV17
B_73_1	B	73	6	17	Maison Carre	HV17
B_83_2	B	83	7	17	Maison Carre	HV17
B_88_2	B	88	7	17	Maison Carre	HV17
B_97_5	B	97	10	17	Maison Carre	HV17
B_07_3	B	7	8	18	Manchuria	HV18
B_08_5	B	8	10	18	Manchuria	HV18
B_17_3	B	17	8	18	Manchuria	HV18
B_22_1	B	22	6	18	Manchuria	HV18
B_34_2	B	34	7	18	Manchuria	HV18
B_39_4	B	39	9	18	Manchuria	HV18
B_48_2	B	48	7	18	Manchuria	HV18
B_56_3	B	56	8	18	Manchuria	HV18
B_57_1	B	57	6	18	Manchuria	HV18
B_65_4	B	65	9	18	Manchuria	HV18
B_75_4	B	75	9	18	Manchuria	HV18
B_79_2	B	79	7	18	Manchuria	HV18
B_90_5	B	90	10	18	Manchuria	HV18
B_93_1	B	93	6	18	Manchuria	HV18
B_03_1	B	3	6	19	Meloy	HV19
B_14_3	B	14	8	19	Meloy	HV19
B_15_4	B	15	9	19	Meloy	HV19
B_26_3	B	26	8	19	Meloy	HV19
B_34_1	B	34	6	19	Meloy	HV19
B_42_1	B	42	6	19	Meloy	HV19
B_43_2	B	43	7	19	Meloy	HV19
B_56_5	B	56	10	19	Meloy	HV19
B_60_3	B	60	8	19	Meloy	HV19
B_65_5	B	65	10	19	Meloy	HV19
B_74_2	B	74	7	19	Meloy	HV19
B_81_4	B	81	9	19	Meloy	HV19
B_87_5	B	87	10	19	Meloy	HV19

B_94_2	B	94	7	19	Meloy	HV19
B_01_2	B	1	7	20	Minia	HV20
B_14_2	B	14	7	20	Minia	HV20
B_15_5	B	15	10	20	Minia	HV20
B_25_4	B	25	9	20	Minia	HV20
B_31_1	B	31	6	20	Minia	HV20
B_42_5	B	42	10	20	Minia	HV20
B_43_4	B	43	9	20	Minia	HV20
B_51_2	B	51	7	20	Minia	HV20
B_62_5	B	62	10	20	Minia	HV20
B_66_4	B	66	9	20	Minia	HV20
B_76_3	B	76	8	20	Minia	HV20
B_81_3	B	81	8	20	Minia	HV20
B_90_1	B	90	6	20	Minia	HV20
B_97_1	B	97	6	20	Minia	HV20
B_05_4	B	5	9	21	Multan	HV21
B_09_1	B	9	6	21	Multan	HV21
B_19_4	B	19	9	21	Multan	HV21
B_26_2	B	26	7	21	Multan	HV21
B_30_4	B	30	9	21	Multan	HV21
B_36_5	B	36	10	21	Multan	HV21
B_48_1	B	48	6	21	Multan	HV21
B_55_3	B	55	8	21	Multan	HV21
B_63_5	B	63	10	21	Multan	HV21
B_64_3	B	64	8	21	Multan	HV21
B_77_1	B	77	6	21	Multan	HV21
B_84_2	B	84	7	21	Multan	HV21
B_85_3	B	85	8	21	Multan	HV21
B_93_2	B	93	7	21	Multan	HV21
B_06_5	B	6	10	22	Oderbrucker	HV22
B_12_2	B	12	7	22	Oderbrucker	HV22
B_16_3	B	16	8	22	Oderbrucker	HV22
B_25_5	B	25	10	22	Oderbrucker	HV22
B_34_4	B	34	9	22	Oderbrucker	HV22
B_40_4	B	40	9	22	Oderbrucker	HV22

B_49_2	B	49	7	22	Oderbrucker	HV22
B_50_3	B	50	8	22	Oderbrucker	HV22
B_59_1	B	59	6	22	Oderbrucker	HV22
B_69_1	B	69	6	22	Oderbrucker	HV22
B_72_2	B	72	7	22	Oderbrucker	HV22
B_84_3	B	84	8	22	Oderbrucker	HV22
B_85_1	B	85	6	22	Oderbrucker	HV22
B_95_5	B	95	10	22	Oderbrucker	HV22
B_05_5	B	5	10	23	Orel	HV23
B_11_1	B	11	6	23	Orel	HV23
B_19_3	B	19	8	23	Orel	HV23
B_28_4	B	28	9	23	Orel	HV23
B_29_5	B	29	10	23	Orel	HV23
B_41_2	B	41	7	23	Orel	HV23
B_44_1	B	44	6	23	Orel	HV23
B_53_2	B	53	7	23	Orel	HV23
B_60_4	B	60	9	23	Orel	HV23
B_68_4	B	68	9	23	Orel	HV23
B_74_1	B	74	6	23	Orel	HV23
B_82_3	B	82	8	23	Orel	HV23
B_86_5	B	86	10	23	Orel	HV23
B_96_3	B	96	8	23	Orel	HV23
B_04_1	B	4	6	24	Palmella Blue	HV24
B_13_2	B	13	7	24	Palmella Blue	HV24
B_21_3	B	21	8	24	Palmella Blue	HV24
B_28_5	B	28	10	24	Palmella Blue	HV24
B_29_3	B	29	8	24	Palmella Blue	HV24
B_41_5	B	41	10	24	Palmella Blue	HV24
B_44_3	B	44	8	24	Palmella Blue	HV24
B_55_1	B	55	6	24	Palmella Blue	HV24
B_58_4	B	58	9	24	Palmella Blue	HV24
B_68_1	B	68	6	24	Palmella Blue	HV24
B_76_2	B	76	7	24	Palmella Blue	HV24
B_79_4	B	79	9	24	Palmella Blue	HV24
B_91_5	B	91	10	24	Palmella Blue	HV24

B_92_4	B	92	9	24	Palmella Blue	HV24
B_04_5	B	4	10	25	Sandrel	HV25
B_11_2	B	11	7	25	Sandrel	HV25
B_17_2	B	17	7	25	Sandrel	HV25
B_23_3	B	23	8	25	Sandrel	HV25
B_33_5	B	33	10	25	Sandrel	HV25
B_37_5	B	37	10	25	Sandrel	HV25
B_49_3	B	49	8	25	Sandrel	HV25
B_51_4	B	51	9	25	Sandrel	HV25
B_62_1	B	62	6	25	Sandrel	HV25
B_70_2	B	70	7	25	Sandrel	HV25
B_72_4	B	72	9	25	Sandrel	HV25
B_78_1	B	78	6	25	Sandrel	HV25
B_90_4	B	90	9	25	Sandrel	HV25
B_93_3	B	93	8	25	Sandrel	HV25
B_06_2	B	6	7	26	Trebi	HV26
B_14_4	B	14	9	26	Trebi	HV26
B_15_1	B	15	6	26	Trebi	HV26
B_25_2	B	25	7	26	Trebi	HV26
B_35_4	B	35	9	26	Trebi	HV26
B_36_3	B	36	8	26	Trebi	HV26
B_44_5	B	44	10	26	Trebi	HV26
B_54_4	B	54	9	26	Trebi	HV26
B_62_2	B	62	7	26	Trebi	HV26
B_67_1	B	67	6	26	Trebi	HV26
B_71_3	B	71	8	26	Trebi	HV26
B_80_5	B	80	10	26	Trebi	HV26
B_90_3	B	90	8	26	Trebi	HV26
B_96_1	B	96	6	26	Trebi	HV26
B_07_5	B	7	10	27	White Smyrna	HV27
B_08_4	B	8	9	27	White Smyrna	HV27
B_15_2	B	15	7	27	White Smyrna	HV27
B_26_5	B	26	10	27	White Smyrna	HV27
B_31_3	B	31	8	27	White Smyrna	HV27
B_41_3	B	41	8	27	White Smyrna	HV27

B_48_3	B	48	8	27	White Smyrna	HV27
B_50_5	B	50	10	27	White Smyrna	HV27
B_60_2	B	60	7	27	White Smyrna	HV27
B_69_2	B	69	7	27	White Smyrna	HV27
B_71_4	B	71	9	27	White Smyrna	HV27
B_80_1	B	80	6	27	White Smyrna	HV27
B_87_1	B	87	6	27	White Smyrna	HV27
B_98_1	B	98	6	27	White Smyrna	HV27
B_06_4	B	6	9	28	Wisconsin Winter	HV28
B_10_5	B	10	10	28	Wisconsin Winter	HV28
B_21_2	B	21	7	28	Wisconsin Winter	HV28
B_22_3	B	22	8	28	Wisconsin Winter	HV28
B_35_5	B	35	10	28	Wisconsin Winter	HV28
B_36_4	B	36	9	28	Wisconsin Winter	HV28
B_43_1	B	43	6	28	Wisconsin Winter	HV28
B_52_4	B	52	9	28	Wisconsin Winter	HV28
B_57_2	B	57	7	28	Wisconsin Winter	HV28
B_69_3	B	69	8	28	Wisconsin Winter	HV28
B_73_5	B	73	10	28	Wisconsin Winter	HV28
B_81_2	B	81	7	28	Wisconsin Winter	HV28
B_88_1	B	88	6	28	Wisconsin Winter	HV28
B_94_1	B	94	6	28	Wisconsin Winter	HV28
B_02_2	B	2	7	29	Morex	HVCTL1
B_07_2	B	7	7	29	Morex	HVCTL1
B_07_4	B	7	9	29	Morex	HVCTL1
B_08_3	B	8	8	29	Morex	HVCTL1
B_09_2	B	9	7	29	Morex	HVCTL1
B_14_5	B	14	10	29	Morex	HVCTL1
B_15_3	B	15	8	29	Morex	HVCTL1
B_16_4	B	16	9	29	Morex	HVCTL1
B_17_1	B	17	6	29	Morex	HVCTL1
B_23_1	B	23	6	29	Morex	HVCTL1
B_24_3	B	24	8	29	Morex	HVCTL1
B_28_3	B	28	8	29	Morex	HVCTL1
B_29_4	B	29	9	29	Morex	HVCTL1

B_30_1	B	30	6	29	Morex	HVCTL1
B_31_4	B	31	9	29	Morex	HVCTL1
B_38_5	B	38	10	29	Morex	HVCTL1
B_39_2	B	39	7	29	Morex	HVCTL1
B_42_2	B	42	7	29	Morex	HVCTL1
B_43_5	B	43	10	29	Morex	HVCTL1
B_46_5	B	46	10	29	Morex	HVCTL1
B_48_5	B	48	10	29	Morex	HVCTL1
B_50_1	B	50	6	29	Morex	HVCTL1
B_53_3	B	53	8	29	Morex	HVCTL1
B_54_1	B	54	6	29	Morex	HVCTL1
B_61_5	B	61	10	29	Morex	HVCTL1
B_62_3	B	62	8	29	Morex	HVCTL1
B_63_4	B	63	9	29	Morex	HVCTL1
B_64_5	B	64	10	29	Morex	HVCTL1
B_68_2	B	68	7	29	Morex	HVCTL1
B_69_5	B	69	10	29	Morex	HVCTL1
B_72_1	B	72	6	29	Morex	HVCTL1
B_73_2	B	73	7	29	Morex	HVCTL1
B_74_3	B	74	8	29	Morex	HVCTL1
B_82_1	B	82	6	29	Morex	HVCTL1
B_83_3	B	83	8	29	Morex	HVCTL1
B_84_1	B	84	6	29	Morex	HVCTL1
B_85_2	B	85	7	29	Morex	HVCTL1
B_86_4	B	86	9	29	Morex	HVCTL1
B_91_4	B	91	9	29	Morex	HVCTL1
B_95_4	B	95	9	29	Morex	HVCTL1
B_96_5	B	96	10	29	Morex	HVCTL1
B_97_4	B	97	9	29	Morex	HVCTL1
B_01_3	B	1	8	30	RGT Planet	HVCTL2
B_04_3	B	4	8	30	RGT Planet	HVCTL2
B_05_2	B	5	7	30	RGT Planet	HVCTL2
B_06_3	B	6	8	30	RGT Planet	HVCTL2
B_09_5	B	9	10	30	RGT Planet	HVCTL2
B_10_4	B	10	9	30	RGT Planet	HVCTL2

B_11_3	B	11	8	30	RGT Planet	HVCTL2
B_12_5	B	12	10	30	RGT Planet	HVCTL2
B_18_5	B	18	10	30	RGT Planet	HVCTL2
B_19_1	B	19	6	30	RGT Planet	HVCTL2
B_20_2	B	20	7	30	RGT Planet	HVCTL2
B_21_5	B	21	10	30	RGT Planet	HVCTL2
B_22_4	B	22	9	30	RGT Planet	HVCTL2
B_26_1	B	26	6	30	RGT Planet	HVCTL2
B_27_5	B	27	10	30	RGT Planet	HVCTL2
B_28_2	B	28	7	30	RGT Planet	HVCTL2
B_29_1	B	29	6	30	RGT Planet	HVCTL2
B_32_3	B	32	8	30	RGT Planet	HVCTL2
B_33_4	B	33	9	30	RGT Planet	HVCTL2
B_34_5	B	34	10	30	RGT Planet	HVCTL2
B_37_3	B	37	8	30	RGT Planet	HVCTL2
B_38_2	B	38	7	30	RGT Planet	HVCTL2
B_39_1	B	39	6	30	RGT Planet	HVCTL2
B_40_3	B	40	8	30	RGT Planet	HVCTL2
B_44_2	B	44	7	30	RGT Planet	HVCTL2
B_45_5	B	45	10	30	RGT Planet	HVCTL2
B_46_3	B	46	8	30	RGT Planet	HVCTL2
B_47_2	B	47	7	30	RGT Planet	HVCTL2
B_51_1	B	51	6	30	RGT Planet	HVCTL2
B_52_5	B	52	10	30	RGT Planet	HVCTL2
B_53_4	B	53	9	30	RGT Planet	HVCTL2
B_54_5	B	54	10	30	RGT Planet	HVCTL2
B_60_1	B	60	6	30	RGT Planet	HVCTL2
B_62_4	B	62	9	30	RGT Planet	HVCTL2
B_63_1	B	63	6	30	RGT Planet	HVCTL2
B_63_3	B	63	8	30	RGT Planet	HVCTL2
B_64_2	B	64	7	30	RGT Planet	HVCTL2
B_64_4	B	64	9	30	RGT Planet	HVCTL2
B_65_1	B	65	6	30	RGT Planet	HVCTL2
B_67_4	B	67	9	30	RGT Planet	HVCTL2
B_74_4	B	74	9	30	RGT Planet	HVCTL2

B_75_2	B	75	7	30	RGT Planet	HVCTL2
B_76_1	B	76	6	30	RGT Planet	HVCTL2
B_77_4	B	77	9	30	RGT Planet	HVCTL2
B_78_2	B	78	7	30	RGT Planet	HVCTL2
B_79_1	B	79	6	30	RGT Planet	HVCTL2
B_80_4	B	80	9	30	RGT Planet	HVCTL2
B_84_4	B	84	9	30	RGT Planet	HVCTL2
B_85_5	B	85	10	30	RGT Planet	HVCTL2
B_86_1	B	86	6	30	RGT Planet	HVCTL2
B_87_3	B	87	8	30	RGT Planet	HVCTL2
B_91_1	B	91	6	30	RGT Planet	HVCTL2
B_92_2	B	92	7	30	RGT Planet	HVCTL2
B_96_2	B	96	7	30	RGT Planet	HVCTL2
B_97_3	B	97	8	30	RGT Planet	HVCTL2
B_98_5	B	98	10	30	RGT Planet	HVCTL2
B_99_1	B	99	1			
B_99_2	B	99	2			
B_99_3	B	99	3			
B_99_4	B	99	4			
B_99_5	B	99	5			

e. Annexe 5 : Sorties des tests d'hypothèses du GLM de l'expérience 7

A. Sorties pour le **premier traitement** effectué sur le **bac A (hordénine)** de la plateforme RootPhAir. La colonne « Entryname » correspond aux noms des variétés utilisées. Les p-valeurs inférieures à 5 % sont surlignées en orange. Les p-valeurs inférieures à 10 % sont mises en gras.

Entryname	Estimate	lwr	upr	Res.Df	RSS	Df	Sum of Sq	F	Pr(>F)
Algerian	3,79500	-25,17713	32,76714	1335	12403,233	1	1,57474	0,16949	0,68063
Alpha	-2,58089	-20,27351	15,11173	1335	12403,233	1	1,95298	0,21021	0,64668
Arequipa	0,76753	-149,01255	150,54762	1335	12403,233	1	0,00241	0,00026	0,98715
Atlas	-1,87790	-32,74164	28,98584	1335	12403,233	1	0,33978	0,03657	0,84837
California Mariout	1,67115	-11,53661	14,87892	1335	12403,233	1	1,46933	0,15815	0,69093
Club Mariout	-1,98786	-14,23337	10,25766	1335	12403,233	1	2,41858	0,26032	0,60999
Everest	-1,61117	-14,07384	10,85151	1335	12403,233	1	1,53392	0,16510	0,68457
Flynn	-1,51216	-13,31461	10,29029	1335	12403,233	1	1,50660	0,16216	0,68724
Glabron	2,24289	-8,81143	13,29721	1335	12403,233	1	3,77830	0,40667	0,52377
Golden Pheasant	4,76277	-5,97999	15,50552	1335	12403,233	1	18,03980	1,94168	0,16372
Good Delta	-1,85705	-18,02393	14,30982	1335	12403,233	1	1,21099	0,13034	0,71813
Han River	3,55629	-7,51988	14,63245	1335	12403,233	1	9,46147	1,01837	0,31309
Hannechen	2,23639	-13,76604	18,23883	1335	12403,233	1	1,79254	0,19294	0,66055
Horn	1,40667	-10,52734	13,34067	1335	12403,233	1	1,27513	0,13725	0,71109
Lion	1,37184	-13,66249	16,40617	1335	12403,233	1	0,76416	0,08225	0,77432
Lyallpur	-3,02896	-18,50304	12,44511	1335	12403,233	1	3,51660	0,37850	0,53851
Maison Carre	2,40276	-12,98185	17,78737	1335	12403,233	1	2,23868	0,24096	0,62360
Manchuria	-1,73647	-17,68583	14,21288	1335	12403,233	1	1,08791	0,11710	0,73226
Meloy	6,85546	-12,08033	25,79126	1335	12403,233	1	12,02958	1,29478	0,25537
Minia	0,00685	-11,65612	11,66982	1335	12403,233	1	0,00003	0,00000	0,99853
Morex	0,77518	-6,51002	8,06038	1335	12403,233	1	1,03912	0,11184	0,73811
Multan	-1,64547	-14,20982	10,91888	1335	12403,233	1	1,57414	0,16943	0,68069
Oderbrucker	1,71230	-13,45652	16,88112	1335	12403,233	1	1,16950	0,12588	0,72280
Orel	-0,23472	-16,36119	15,89175	1335	12403,233	1	0,01944	0,00209	0,96352
Palmella Blue	-10,49285	-100,42801	79,44230	1335	12403,233	1	1,24932	0,13447	0,71390
RGT Planet	4,42747	-3,40640	12,26134	1335	12403,233	1	29,31591	3,15537	0,07591
Sandrel	0,30941	-174,35847	174,97728	1335	12403,233	1	0,00029	0,00003	0,99556
Trebi	0,57511	-18,25186	19,40208	1335	12403,233	1	0,08564	0,00922	0,92353
White Smyrna	-0,57892	-16,84748	15,68964	1335	12403,233	1	0,11622	0,01251	0,91096
Wisconsin Winter	3,88995	-8,07146	15,85136	1335	12403,233	1	9,70659	1,04475	0,30690

B. Sorties pour le **deuxième traitement** effectué sur le **bac A (hordénine)**. Les p-valeurs inférieures à 5 % sont surlignées en orange. Les p-valeurs inférieures à 10 % sont mises en gras.

Entryname	Estimate	lwr	upr	Res.Df	RSS	Df	Sum of Sq	F	Pr(>F)
Algerian	-0,05008	-5,44233	5,34216	6390	85071,283	1	0,01131	0,00085	0,97675
Alpha	0,39159	-4,54512	5,32830	6390	85071,283	1	0,82496	0,06197	0,80342
Arequipa	0,43092	-17,01035	17,87219	6390	85071,283	1	0,08004	0,00601	0,93820
Atlas	1,29006	-7,68592	10,26604	6390	85071,283	1	2,70833	0,20343	0,65198
California Mariout	0,68932	-3,49155	4,87019	6390	85071,283	1	3,56416	0,26772	0,60489
Club Mariout	-0,88083	-4,12471	2,36305	6390	85071,283	1	9,66725	0,72614	0,39417
Everest	-0,50210	-3,70716	2,70297	6390	85071,283	1	3,21771	0,24169	0,62300
Flynn	-0,60438	-3,88796	2,67920	6390	85071,283	1	4,44198	0,33365	0,56354
Glabron	-0,95743	-4,17576	2,26089	6390	85071,283	1	11,60392	0,87161	0,35055
Golden Pheasant	-2,17417	-5,22048	0,87213	6390	85071,283	1	66,78664	5,01658	0,02514
Good Delta	-1,47670	-5,62743	2,67403	6390	85071,283	1	16,59532	1,24653	0,26426
Han River	-1,45862	-4,75276	1,83552	6390	85071,283	1	25,70679	1,93093	0,16471
Hannechen	-1,45910	-5,64926	2,73105	6390	85071,283	1	15,89871	1,19421	0,27452
Horn	-2,39063	-5,94108	1,15981	6390	85071,283	1	59,44417	4,46506	0,03463
Lion	-0,88812	-5,03248	3,25623	6390	85071,283	1	6,02118	0,45227	0,50128
Lyallpur	-0,32727	-4,14120	3,48665	6390	85071,283	1	0,96544	0,07252	0,78771
Maison Carre	0,51397	-4,04719	5,07512	6390	85071,283	1	1,66483	0,12505	0,72363
Manchuria	-0,19161	-4,21994	3,83671	6390	85071,283	1	0,29666	0,02228	0,88134
Meloy	-1,15169	-6,62203	4,31864	6390	85071,283	1	5,81157	0,43653	0,50883
Minia	-1,31374	-5,26839	2,64090	6390	85071,283	1	14,46954	1,08686	0,29721
Morex	-0,72546	-2,83498	1,38406	6390	85071,283	1	15,50631	1,16473	0,28053
Multan	-1,55243	-5,08289	1,97804	6390	85071,283	1	25,35174	1,90426	0,16765
Oderbrucker	-0,05801	-4,09300	3,97698	6390	85071,283	1	0,02710	0,00204	0,96402
Orel	0,67574	-3,81911	5,17059	6390	85071,283	1	2,96332	0,22259	0,63709
Palmella Blue	-1,46759	-12,80447	9,86929	6390	85071,283	1	2,19720	0,16504	0,68457
RGT Planet	-1,37973	-3,46956	0,71009	6390	85071,283	1	57,15037	4,29276	0,03831
Sandrel	1,46337	-17,09284	20,01958	6390	85071,283	1	0,81541	0,06125	0,80454
Trebi	0,10528	-5,88418	6,09474	6390	85071,283	1	0,04051	0,00304	0,95601
White Smyrna	-2,34651	-7,69477	3,00176	6390	85071,283	1	25,23864	1,89576	0,16860
Wisconsin Winter	-1,33608	-4,89778	2,22563	6390	85071,283	1	18,44989	1,38584	0,23915

C. Sorties pour le **premier traitement** effectué sur le **bac B (gramine)**. Les p-valeurs inférieures à 5 % sont surlignées en orange. Les p-valeurs inférieures à 10 % sont mises en gras.

Entryname	Estimate	lwr	upr	Res.Df	RSS	Df	Sum of Sq	F	Pr(>F)
Algerian	-0,17145	-4,66104	4,31814	6387	85571,616	1	0,19243	0,01436	0,90461
Alpha	-0,25452	-11,39753	10,88849	6387	85571,616	1	0,06884	0,00514	0,94286
Arequipa	0,04372	-4,61300	4,70044	6387	85571,616	1	0,01163	0,00087	0,97650
Atlas	-0,39690	-6,30993	5,51613	6387	85571,616	1	0,59449	0,04437	0,83317
California Mariout	-0,26642	-4,80257	4,26972	6387	85571,616	1	0,45516	0,03397	0,85377
Club Mariout	-0,04243	-3,95397	3,86912	6387	85571,616	1	0,01552	0,00116	0,97285
Everest	-0,35778	-3,70378	2,98822	6387	85571,616	1	1,50862	0,11260	0,73721
Flynn	-1,14159	-4,70431	2,42113	6387	85571,616	1	13,54741	1,01117	0,31466
Glabron	-1,23550	-6,07352	3,60252	6387	85571,616	1	8,60497	0,64227	0,42292
Golden Pheasant	-0,87138	-4,59415	2,85139	6387	85571,616	1	7,22905	0,53957	0,46264
Good Delta	-1,20576	-6,03083	3,61931	6387	85571,616	1	8,23973	0,61501	0,43294
Han River	-2,16112	-5,53404	1,21180	6387	85571,616	1	54,16830	4,04308	0,04439
Hannechen	-0,28110	-4,54213	3,97994	6387	85571,616	1	0,57422	0,04286	0,83600
Horn	-0,89824	-4,15938	2,36290	6387	85571,616	1	10,01020	0,74715	0,38741
Lion	-0,83842	-5,25438	3,57754	6387	85571,616	1	4,75632	0,35501	0,55131
Lyallpur	-0,51360	-4,44716	3,41996	6387	85571,616	1	2,24947	0,16790	0,68200
Maison Carre	-1,77725	-6,77147	3,21696	6387	85571,616	1	16,70952	1,24719	0,26413
Manchuria	-0,93824	-4,69865	2,82216	6387	85571,616	1	8,21412	0,61310	0,43365
Meloy	0,39552	-4,05919	4,85023	6387	85571,616	1	1,04015	0,07764	0,78054
Minia	-0,73807	-4,94454	3,46841	6387	85571,616	1	4,06211	0,30319	0,58191
Morex	-1,31710	-3,89338	1,25917	6387	85571,616	1	34,48707	2,57409	0,10868
Multan	-2,23341	-5,98149	1,51467	6387	85571,616	1	46,85109	3,49693	0,06153
Oderbrucker	-0,70432	-4,64603	3,23738	6387	85571,616	1	4,21287	0,31445	0,57498
Orel	-0,57187	-4,54025	3,39651	6387	85571,616	1	2,74012	0,20452	0,65111
Palmella Blue	-0,54059	-5,18474	4,10355	6387	85571,616	1	1,78785	0,13344	0,71490
RGT Planet	-0,92955	-2,90650	1,04739	6387	85571,616	1	29,17171	2,17735	0,14010
Sandrel	-1,71909	-8,00905	4,57086	6387	85571,616	1	9,85603	0,73565	0,39109
Trebi	-1,60402	-7,05633	3,84829	6387	85571,616	1	11,41978	0,85236	0,35592
White Smyrna	-1,24705	-7,97152	5,47742	6387	85571,616	1	4,53786	0,33870	0,56060
Wisconsin Winter	0,14689	-3,44485	3,73862	6387	85571,616	1	0,22068	0,01647	0,89788

D. Sorties pour le **deuxième traitement** effectué sur le **bac B (gramine)**. Les p-valeurs inférieures à 5 % sont surlignées en orange. Les p-valeurs inférieures à 10 % sont mises en gras.

Entryname	Estimate	lwr	upr	Res.Df	RSS	Df	Sum of Sq	F	Pr(>F)
Algerian	-0,14144	-3,87705	3,59418	8761	156668,918	1	0,25241	0,01411	0,90543
Alpha	0,24707	-8,99044	9,48458	8761	156668,918	1	0,12596	0,00704	0,93312
Arequipa	-0,00176	-3,78113	3,77762	8761	156668,918	1	0,00004	0,00000	0,99884
Atlas	-0,45903	-5,27654	4,35847	8761	156668,918	1	1,59863	0,08940	0,76495
California Mariout	-0,08291	-3,65966	3,49383	8761	156668,918	1	0,09462	0,00529	0,94202
Club Mariout	-0,21359	-3,11088	2,68369	8761	156668,918	1	0,95695	0,05351	0,81706
Everest	-0,14275	-2,81136	2,52586	8761	156668,918	1	0,50382	0,02817	0,86670
Flynn	-0,28643	-3,03681	2,46395	8761	156668,918	1	1,90965	0,10679	0,74384
Glabron	-0,88767	-4,54314	2,76781	8761	156668,918	1	10,38274	0,58061	0,44609
Golden Pheasant	-0,80420	-3,72257	2,11418	8761	156668,918	1	13,37038	0,74768	0,38724
Good Delta	0,07587	-3,64829	3,80002	8761	156668,918	1	0,07307	0,00409	0,94903
Han River	1,18621	-1,54514	3,91756	8761	156668,918	1	33,21005	1,85712	0,17299
Hannechen	1,13585	-2,23530	4,50701	8761	156668,918	1	19,98886	1,11779	0,29042
Horn	0,34490	-2,24009	2,92989	8761	156668,918	1	3,13453	0,17528	0,67547
Lion	-0,16323	-3,58241	3,25595	8761	156668,918	1	0,40129	0,02244	0,88093
Lyallpur	-0,16451	-3,35853	3,02951	8761	156668,918	1	0,46710	0,02612	0,87161
Maison Carre	0,34359	-3,73322	4,42039	8761	156668,918	1	1,25066	0,06994	0,79143
Manchuria	0,24374	-2,85248	3,33995	8761	156668,918	1	1,09114	0,06102	0,80490
Meloy	-0,03204	-3,74778	3,68371	8761	156668,918	1	0,01309	0,00073	0,97842
Minia	0,17759	-3,23839	3,59358	8761	156668,918	1	0,47591	0,02661	0,87042
Morex	0,82506	-1,12809	2,77822	8761	156668,918	1	31,41966	1,75700	0,18503
Multan	1,46656	-1,58058	4,51370	8761	156668,918	1	40,78656	2,28080	0,13102
Oderbrucker	-0,75935	-3,86597	2,34726	8761	156668,918	1	10,51993	0,58828	0,44311
Orel	-0,61687	-3,81799	2,58426	8761	156668,918	1	6,53850	0,36564	0,54541
Palmella Blue	-3,18535	-7,15222	0,78152	8761	156668,918	1	113,53215	6,34877	0,01176
RGT Planet	-0,10408	-1,68671	1,47855	8761	156668,918	1	0,76150	0,04258	0,83652
Sandrel	0,88346	-4,28104	6,04796	8761	156668,918	1	5,15251	0,28813	0,59143
Trebi	1,25558	-3,05369	5,56484	8761	156668,918	1	14,94793	0,83590	0,36060
White Smyrna	-3,75420	-9,62052	2,11212	8761	156668,918	1	72,11126	4,03250	0,04466
Wisconsin Winter	0,02198	-2,91338	2,95734	8761	156668,918	1	0,00987	0,00055	0,98125