

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie



جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Biologie et Ecologie Végétale

قسم: بيولوجيا و ايكولوجيا النبات

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie et Génomique Végétale

Intitulé :

Effet du stress oxydatif sur différentes variétés de blé dur

(*Triticum durum* Desf) et sur leurs systèmes défensifs

Présenté et soutenu par : **BENGHERSALLAH Nour El Houda.**

Le : 16 /06/2015

Jury d'évaluation :

Président(e) : Mm.YKHLEF Nadia

Professeur à l'université des Frères Mentouri

Rapporteur : Mm.BOUSBA Ratiba

M.C A à l'université des Frères Mentouri

Examineur : Mlle.MOUELLEF Adra

MA A à l'université des Frères Mentouri

Année universitaire

2014-2015

Remerciements

A la fin de ce travail, je veux remercier toutes les personnes qui m'ont aidé, de près ou de loin, dans sa réalisation.

*Ce travail n'aurait pas vu le jour sans le soutien et l'assistance de **Mm.Bousba Ratiba** Maître de conférences à l'université de Mentouri de Constantine, je la remercie vivement .C'est avec elle que j'ai fait les premiers pas dans la recherche scientifique et j'ai savouré le goût de la recherche. Qu'elle trouve ici ma profonde reconnaissance.*

*Je remercie **Mm. Yekhllef Nadia**, Professeur à l'université Mentouri, qui m'a d'abord enseigné l'art de la recherche bibliographique, son exploitation, sa synthèse et les manières de la citer, pour sa grande disponibilité et d'avoir accepter de présider ce jury , qu'elle trouve ici ma sincère reconnaissance.*

*Mes remerciements les plus sincères a , **Melle.Mouellef Adra** Maître assistante à l'université de Mentouri d qui a accepter d'examiner ce modeste travail.*

*Un grand merci a **Mr.DJEKOUN** le responsable du laboratoire*

*Un remerciement particulier à **Mr. Belbekri Nadir** et **Mm Bouladjedj Rima** pour leur patience, conseils et surtout gentillesse de m'avoir guidé au laboratoire.*

*Je tiens également à remercier, tous les enseignants qui ont participé à ma formation : **Mm. Ghioua K**, **Mm. Khalfallah N**, **Mr.Kellou K**, **Mr.Themaghoul M**, **Melle.Benabdoune M** , **Melle.Bouchemal K**.*

Merci

Dédicaces

C'est grâce à Allah que j'ai eu le courage et la force d'accomplir ce modeste travail.

Je dédie ce travail à celui que je ne pourrais jamais remercier assez, à mon père qui a semé en moi le respect et l'amour de la science; ma mère, je tiens à exprimer ma profonde gratitude et tous mes respects pour tout son affection, son soutien et sa compréhension.

A mes sœurs Ines et Rym

A toute ma famille

A mes chères Amies amies Soumia , besma, Amira qui m'ont toujours encouragé

A mes chers collègues de la promotion 2015

A tous ceux qui m'on encouragé de près ou de loin

Nour el Houda

Résumé

Les cultures céréalières sont importantes, se concentrent principalement dans les zones arides et semi arides là où les conditions climatiques limitent sérieusement le potentiel de production. En raison du caractère imprévisible de la contrainte hydrique, la tolérance s'avère la stratégie la plus efficace dans les situations de stress sévère et prolongé. Lors de cette tolérance on assiste à des modifications de structure ou de fonctions qui augmentent la probabilité de survie et de production des plantes lors de ces conditions.

Dans ce travail, nous avons fixé comme objectif d'évaluer l'effet du stress hydrique et LE traitement des graine par l'ABA sur des paramètres physiologique et biochimique tel que la résistance stomatique, intégrité membranaire, l'activité peroxydase, catalase, MDA, SOD et ABA. Et d'examiner les différences en ces paramètres entre trois variétés de blé dur Hoggar, Hedba3 et Sigus.

L'analyse des résultats a montré que, lors de privation de l'eau, le comportement des plantes se manifeste différemment d'un niveau de stress à un autre et d'une variété à une autre.

En général, les conditions de contrainte hydrique, ont entraîné chez les trois variétés étudiées une grande variabilité de réponse face au stress hydrique qui a causé une production des ROS chez les trois variétés. Le dosage de l'ABA par HPLC a permis de quantifier le taux de cette dernière qui a un rôle défensif très important contre le stress oxydatif. Ainsi que L'apport exogène de l'ABA qui a été efficace dans l'induction de la tolérance la sécheresse.

Mots clés : Blé dur, stress hydrique, stress oxydatif, ABA, HPLC.

Summuray

Cereal crops are important, crops are concentrated mainly in the arid and semi arid areas where climatic conditions severely limit production potential. Because of the unpredictability of water stress, tolerance proves the most effective strategy in severe and prolonged stress situations. When this tolerance we are witnessing structural changes or features that increase the probability of survival and production plants in these conditions.

In this work, we have set a goal to evaluate the effect of water stress and seed processing THE ABA on physiological and biochemical parameters such as stomatal resistance, membrane integrity, peroxidase activity, catalase, MDA , SOD and ABA. And to examine differences in these parameters between three varieties of durum Hoggar Hedba3 and Sigus.

Analysis of the results showed that when deprivation of water, plant behavior is manifested differently from a stress level to another and from one variety to another.

Generally, water stress conditions, resulted in three varieties studied a great deal of variability in response to water stress caused a production of ROS in three varieties. The ABA HPLC assay was used to quantify the rate of the latter has a very important defensive role against oxidative stress. As the exogenous ABA was an effective in inducing tolerance to drought.

In conclusion, the study showed that both varieties studied used the same tolerance strategies to water stress

Keywords: Durum wheat, water stress, oxidative stress, catalase, peroxidase, MDA, SOD, ABA, HPLC

الملخص

محاصيل الحبوب هي محاصيل هامة تتركز بشكل رئيسي في المناطق القاحلة وشبه القاحلة حيث الظروف المناخية تحد بشدة من إمكانيات الإنتاج. بسبب عدم القدرة على التنبؤ بالإجهاد المائي تحمل الاجهاد يعتبر الاستراتيجية الأكثر فعالية في حالات الإجهاد شديدة وطويلة الأمد. فعندما يكون هذا الاجهاد تشهد النبتة تغييرات هيكلية و جزيئية تزيد من احتمال بقاء النباتات والإنتاج في ظل هذه الظروف.

في هذا العمل، وضعنا هدفا لتقييم تأثير الإجهاد المائي والبذور الحبوب المعالجة بحمض الابسيسيك على القياسات الفيزيولوجية و البيوكيميائية مثل مقاومة الثغور. سلامة الغشاء و نشاط البيروكسيداز الكاتالاز

و SOD MDA و ABA.

و دراسة الاختلافات في هذه المعايير بين ثلاثة انماط وراثية من القمح القاسي. الهقار. هضبة 3 وسيقوس

وأظهر تحليل النتائج أنه عند الحرمان من الماء، يختلف سلوك النبات من مستوى التوتر إلى آخر ومن مجموعة إلى أخرى.

عموما، ظروف الإجهاد المائي، أسفرت عن دراسة ثلاثة أصناف و التي عرفت قدرا كبيرا من التغير في تركيز حمض الابسيسيك في الجذور بالإضافة الى المعايير الاخرى

في الختام، وأظهرت الدراسة أن كلا من الأصناف المدروسة استخدام نفس استراتيجيات تحمل للإجهاد المائي

كلمات البحث: القمح القاسي، ، الإجهاد المائي، الإجهاد التأكسدي، الكاتالاز، البيروكسيداز،

،SOD،MDA،HPLC.

Liste des abréviations :

%	Pourcentage
ABA	Acide abscissique
BD	Solution nutritive de Broughton et Dillworth
CAT	Catalase
ERO	Especies réactive d'oxygene
FAO	Food and Agriculture Organization
H⁺	Proton
HPLC	Chromatographie liquide a haute performance
ITGC	Institut Technique des Grandes Cultures
MDA	Malondialdehyde
NBT	NitroBlue tetrazolium
O₂ .-	Anion superoxyde
O₂	Oxygene
POX	Peroxydase
Rs	résistance stomatique
SOD	Super oxyde dismutase
uM	Micro mole

Liste des figures

Figure 1 : Evolution de la demande en céréales des pays du bassin méditerranéen.....	4
Figure 2 : Séquence de réaction au stress.....	5
Figure 3 : Mécanisme de réponse des plantes a la sécheresse et les caractères impliqués dans la réponse.....	6
Figure 4 : Fermeture des stomates lors d'un stress hydrique.....	7
Figure 5 : Voie métabolique de l'O ₂ et des ERO (espèces réactives d'oxygène).....	9
Figure 6 : Schéma des différentes formes de ROS.....	10
Figure 7 : Les différents stades de réduction d'oxygène.....	11
Figure 8 : Effets nuisibles des ROS.....	12
Figure 9 : Pyramide des systèmes de défenses antioxydants.....	9
Figure 10 : schéma de système de défense antioxydant enzymatique.....	14
Figure 11 : Structure biochimique de l'ABA.....	16
Figure 12 : Voie de biosynthèse de l'ABA.....	17
Figure 13 : Disposition de l'essai.....	19
Figure 14 : Mesure de la résistance stomatique.....	20
Figure 15 : incubation des échantillons a 50°C.....	21
Figure 16 : Variation de la résistance stomatique chez les trois variétés étudiées sous deux niveaux de stress hydrique (2h et 4h) et traitement avec l'ABA.....	27
Figure 17 : Pourcentage de l'intégrité membranaire chez les génotypes stressés 4h et les témoins.....	28
Figure 18 : Niveau de l'acide abscissique chez les trois variétés étudiées en condition de stress sévère.....	29
Figure 19 : Variation de l'activité Catalase chez les trois génotypes.....	31
Figure 20 : Variation de l'activité peroxydase chez les génotypes étudiés traité par l'ABA et soumis a deux niveaux de stress hydrique.....	32
Figure 21 : Pourcentage d'inhibition de la SOD.....	33

Liste des tableaux

Tableau 1. Production mondiale de blé dur	3
Tableau 2 : Origine et localisation des especes réactives d'oxygène	12
Tableau3 : Différents mécanismes des systèmes antioxydants	14
Tableau 4 : Composition du milieu BD	20
Tableau 5: La constitution du milieu réactionnel.....	24

Sommaire

Introduction.....	1
-------------------	---

Chapitre I : Revue bibliographique

1. Importance du blé.....	3
1.1 Dans le monde.....	3
1.2 En Algérie.....	3
2. Le stress.....	4
2.1 Notion de stress.....	5
2.2 Le stress hydrique.....	6
2.3 Le stress oxydatif et son origine	8
3. Les radicaux libres.....	9
3.1 Définition.....	9
3.2 Principaux radicaux libre	9
3.3 Sources de ROS dans la cellule végétale.....	11
4. Les systèmes de défenses anti oxydants.....	13
4.1 Systèmes antioxydants enzymatiques.....	13
4.1.1 Superoxyde dismutase (SOD).....	14
4.1.2 Glutathion peroxydase (GPx).....	15
4.1.3 Catalase.....	15
4.1.4 Peroxydase	15
4.1.5 Malondialdehyde (MDA).....	15
4.2 L'hormone végétale ABA.....	15
4.2.1 Nature biochimique- biosynthese	16
4.2.2 Effets physiologiques et mécanismes d'action.....	16

Chapitre II : Matériel et méthodes

1. Matériel végétal.....	19
2. Mise en place de l'essai.....	19

3. Dispositif experimental et conduite de l'essai	19
4. Parametres étudiés.....	20
4.1 Parametres physiologiques.....	20
4.1.1 Résistance stomatique.....	20
4.1.2 Intégrité membranaire.....	21
4.2 Parametres biochimiques	21
4.2.1 Dosage de l'ABA	21
4.2.2 Dosage de l'activité catalase.....	23
4.2.3 Dosage de la peroxydase.....	23
4.2.4 Mesure de l'activité SOD.....	24
4.2.5 Dosage du MDA.....	25
5. Traitement des données	25

Chapitre III : Résultats et discussion

1. Parametres physiologiques.....	26
1.1 Résistance stomatique.....	26
1.2 Intégrité membranaire.....	26
2. Parametres biochimiques	28
2.1 Dosage de l'ABA	28
2.2 Dosage de l'activité catalase.....	30
2.3 Dosage de la peroxydase.....	32
2.4 Mesure de l'activité SOD.....	33
2.5 Dosage du MDA.....	34

Conclusion.....	37
-----------------	----

Références bibliographiques.....	39
----------------------------------	----

Annexes

Introduction

Introduction :

La culture des céréales est la spéculation prédominante de l'agriculture algérienne. Elle s'étend sur près de six millions d'hectares dans un système biennal dominant jachère -céréale. La production nationale est faible et ne permet de satisfaire qu'environ 35 % des besoins d'une population de plus en plus croissante (**Bedrani, 2004 ; Hervieu *et al.*, 2006**)

Le pays figure actuellement parmi les premiers importateurs mondiaux de blé dur en s'accaparant de près de 50 % du marché mondial (**CIC, 2007**)

En effet, la majeure partie des emblavures se trouve sur les hauts plateaux caractérisées par l'altitude, des hivers relativement froids, un régime pluviométrique insuffisant et irrégulier, des gelées printanières fréquentes, et l'apparition du sirocco en fin de cycle (**Baldy, 1974 ; Mekhlouf *et al.*, 2006**).

Dans les régions arides et semi-arides, l'eau constitue le principal facteur limitant l'extension et l'intensification des cultures céréalières (**Alem *et al.*, 2002**).

L'amélioration des performances des cultures, conduites sous stress hydrique, peut être réalisée par des changements agronomiques et/ou par la création de variétés résistantes à ces contraintes (**Richards *et al.*, 2002 ; Araus *et al.* 2003**)

La connaissance des génotypes résistants au déficit hydrique nécessite l'identification des mécanismes de résistance aux conditions défavorables du milieu, Pour cela, Plusieurs critères de tolérance physiologiques et agronomiques ont été identifiés à l'échelle des organes et de la plante entière et sont utilisés dans le but de la discrimination entre les différents génotypes pour la résistance a la sécheresse. C'est par cette voie que l'on pourra sélectionner des espèces ou des génotypes céréalières susceptibles de s'adapter aux milieux secs avec la production de rendements appréciables.

Une conséquence des stress environnementaux, comprenant le stress hydrique, est l'apparition du stress oxydatif (**Hernandez *et al.*, 2001**), c'est-à-dire l'accumulation d'espèces réactives d'oxygène (ROS) à des concentrations élevées (**Azevedo *et al.*, 2006**), qui endommagent les structures cellulaires (**Parent *et al.*, 2008**). Ces derniers sont à l'origine du dysfonctionnement de l'appareil photosynthétique et les autres troubles métaboliques (**Rahnama et Ebrahimzadeh, 2005**). De nombreux travaux montrent que des métabolites enzymatiques et non enzymatiques antioxydants

telles que les superoxyde-dismutases (SOD), les ascorbate peroxydases (APX), les catalases (CAT), des glutathion-S-transférases (GST) et les glutathion peroxydases (GPX) s'accumulent plus pendant le stress hydrique (**Sudhakar et al., 2001**)

Cependant, la tolérance des plantes à la contrainte hydrique est fortement corrélé à leur capacité de synthèse des antioxydants nécessaire pour faire face au ROS et de maintenir leur concentration à faible niveau dans les cellules lors du stress (**Reddy et al., 2004**).

La recherche des mécanismes pour comprendre l'action hormonale sur le processus de germination constitue une clé majeure pour améliorer la germination des espèces sensibles au stress et ultérieurement leur mise en place dans des conditions de sécheresse (**ATIA et al., 2009**). Parmi les hormones, l'acide abscissique (ABA) qui est une phytohormone impliquée dans l'abscission des feuilles et la dormance des bourgeons ; elle est considérée aussi comme le composant clé de l'adaptation des végétaux aux stress abiotiques, notamment la sécheresse et le stress salin (**HUBBARD et al., 2010; FUJITA et al., 2011**). L'accumulation de l'ABA dans les cellules augmente en réponse des stress abiotiques tels que la chaleur, la sécheresse, ou déclenchement des réponses biochimiques spécifiques. Lorsque la contrainte est atténuée, l'hormone est métabolisée en produits inactifs (**Seo et Koshiba, 2002**).

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'action hormonale à savoir l'acide abscissique sur les géotypes étudiés de blé dur soumis à une contrainte hydrique.

Nous proposons dans un premier chapitre une revue bibliographique comportant trois parties :

*la première est basée sur L'importance du blé dans le monde et en Algérie

*la seconde partie s'inscrit dans le sens de la compréhension de la notion de stress en particulier les stress hydrique et oxydatif.

*une troisième partie est réservée pour définir les radicaux libres et leurs sources suivi d'une quatrième partie qui explique les systèmes de défenses antioxydants.

Le deuxième chapitre décrit la méthodologie adoptée au cours de cette expérimentation ;

l'exploitation des résultats obtenus est décrite dans un troisième chapitre, ainsi que la discussion des résultats obtenus portant sur l'action hormonale et hydrique sur différents paramètres. Enfin une conclusion suivie de références bibliographiques et annexes.

Revue bibliographique e

1- Importance du blé :

Le blé dur (*Triticum durum* Desf.) occupe une importante place parmi les céréales dans le monde. Le grain du blé dur sert à la production de pâtes alimentaires, du couscous, et à bien d'autres mets comme le pain, le frik, et divers gâteaux (Troccoli *et al.*, 2000). Il est utilisé pour préparer les chappattis dans le souscontinent indien et tortillas en Amérique Central et du Sud (Pena et Pfeiffer, 2005). La paille est utilisée comme litière et comme aliment pour les animaux (Bahlouli *et al.*, 2005)

1-1 Dans le monde :

Le blé dur occupe 8 à 10% du total des terres réservées aux blés dans le monde. La FAO (2007) estime que la superficie moyenne consacrée annuellement à la culture du blé dur est de 18 millions d'hectares, pour une production annuelle moyenne de 27.5 millions de tonnes. La culture du blé dur est concentrée au Moyen-Orient, en Afrique du Nord, en Russie, aux Dakotas, au Canada, en Inde et en Europe méditerranéenne. Avec une production de 8.08 millions de tonnes par an, moyenne de la période 1994-2007, l'Union européenne est le plus grand producteur de blé dur (Tableau 1). Le Canada arrive au deuxième rang avec 4,6 millions de tonnes par an, suivi de la Turquie et des États-Unis, avec 1.99 et 2.67 millions de tonnes respectivement. Ces quatre pays fournissent à eux seuls les deux tiers de la production mondiale (Tableau 1)

Tableau 1. Production (106 t) mondiale de blé dur (FAO, 2007)

	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007
Algerie	0.56	1.19	2.04	0.46	1.50	0.90	0.49	1.22	0.95	1.81	1.82	1.00	1.00	1.30
Maroc	2.34	0.50	2.27	0.88	1.54	0.80	0.43	1.04	1.03	1.77	2.03	0.75	1.20	1.50
Tunisie	0.44	0.47	1.62	0.80	1.10	1.14	1.10	0.94	0.37	1.31	1.40	1.15	1.10	1.60
Syrie	1.95	2.35	2.45	1.90	2.60	1.00	1.10	2.40	2.30	2.30	2.10	2.10	2.10	2.50
Turquie	1.08	1.30	1.50	2.20	2.40	1.60	2.00	1.60	2.30	2.30	2.40	2.30	2.30	2.70
UE	7.16	6.17	7.59	6.70	8.72	7.20	9.07	7.53	9.52	8.34	11.86	7.33	7.66	8.30
Inde	1.70	1.90	1.80	1.80	1.00	1.00	1.00	1.20	1.40	0.80	1.20	1.20	1.20	1.10
Mexique	1.10	1.10	1.10	1.10	1.10	1.10	1.10	1.10	1.10	1.20	1.20	1.20	0.48	1.20
USA	2.63	2.78	3.16	2.39	3.76	2.70	2.99	2.27	2.18	2.63	2.45	2.56	2.30	2.60
Canada	4.64	4.65	4.63	4.35	6.04	4.34	5.71	2.99	3.88	4.28	4.96	4.75	4.80	4.60
Argentine	0.10	0.10	0.19	0.29	0.16	0.18	0.19	0.14	0.10	0.15	0.18	0.16	0.16	0.40
Australie	0.06	0.20	0.26	0.28	0.40	0.40	0.40	0.40	0.10	0.45	0.40	0.40	0.40	0.70
Russie	1.80	1.00	1.30	2.00	0.50	1.00	1.00	1.30	1.50	1.20	1.00	1.20	1.20	1.70
Kazakhstan	0.70	0.50	0.50	0.50	0.30	0.40	0.10	0.05	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	3.00
Monde	26.2	24.2	30.4	25.7	31.1	23.8	26.7	24.2	26.8	28.6	33.0	26.2	26.0	33.2

1-2 En Algérie

La superficie totale de l'Algérie est de 238 millions d'hectares dont 191 millions sont occupés par le Sahara. La superficie agricole représente 3% de ce total. La surface agricole utile est de 7,14 millions d'hectares, dont près de la moitié est laissée en jachère chaque campagne. Les cultures herbacées couvrent 3,8 millions d'hectares. La céréaliculture constitue la principale activité, notamment dans les zones arides et semi-arides. Les terres annuellement emblavées représentent 3,6 millions d'hectares, soit 50% des terres labourées (Madr, 2007).

Le blé dur est une culture traditionnelle dont l'origine remonte selon **Laumont et Erroux (1961)**, à la venue des arabes. Cette spéculation se partageait avec l'orge, l'essentiel des emblavements; alors que le blé tendre s'est développé après l'indépendance. La superficie occupée par le blé dur est de 1 457 913 hectares, en moyenne pour la période 1996/97- 2003/2004. L'importance des superficies occupées par les blés, comparativement à celle de l'orge, est influencée par le prix à la production garanti par l'état. Ces prix sont de 4500, 3500 et 2500 DA le quintal respectivement pour le blé dur, le blé tendre et l'orge.

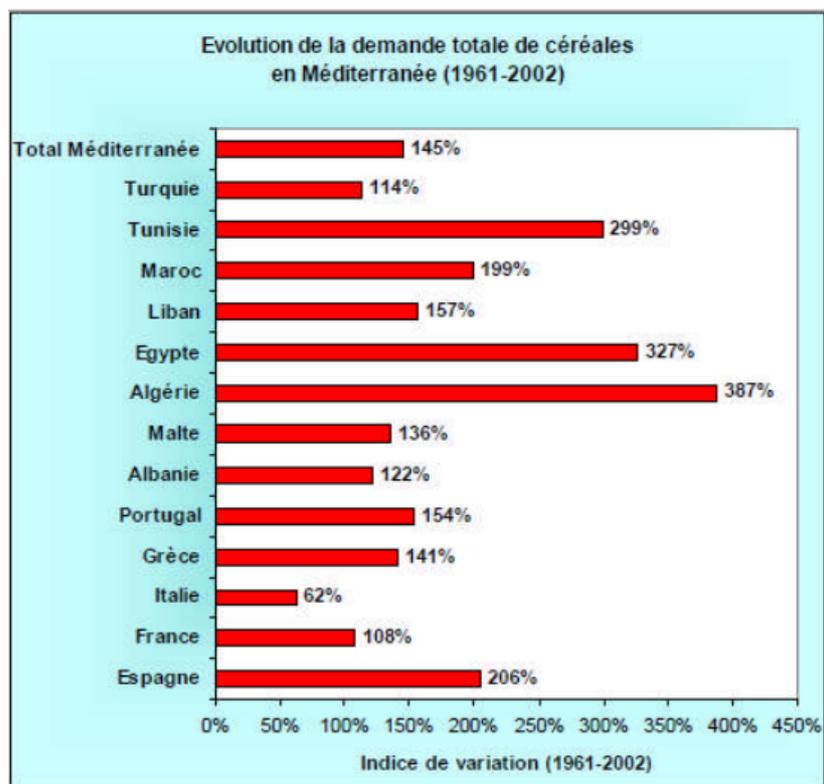


Figure 1 : Evolution de la demande en céréales des pays du bassin méditerranéen (Hervieu *et al.*, 2006)

La culture du blé dur demeure encore difficile à maîtriser tant que celle-ci reste confrontée et soumise à plusieurs contraintes (aléas climatiques et faible maîtrise de l'itinéraire technique). Cette situation engendre une production faible et variable qui ne couvre que 30 à 35 % des besoins. Pour la période 2000-2005, la production de blé dur a varié de 4 863 340 à 20 017 000 q, avec une moyenne de 13 414 780 q (**Madr, 2007**). Comparativement, celle de blé tendre a varié de 2 740 270 à 11 625 590 q, avec une moyenne de 7 271 314 q. Pour la même période, la production des blés a varié de 7 603 610 à 29 648 520 q, avec une moyenne de 20 686 094 q. Cette production est loin de couvrir la demande qui est de plus en plus importante, suite au faible nombre de produits de substitution et au soutien des prix des céréales (**Bedrani, 2001**).

Les rendements réalisés sont très bas, comparativement à la moyenne mondiale qui est de 29 q/ha, comparativement au rendement moyen des pays voisins qui est de 20 q/ha. Le rendement de blé dur stagne à une moyenne de 10 q/ha, avec de fortes variations interannuelles. (**FAO, 2007**).

2- Le stress

2.1 Notion de stress :

Le stress est l'ensemble des perturbations physiologiques ou pathologiques provoqués dans l'organisme par des agents biotiques (parasite, pathogène) ou abiotiques (salinité, sécheresse, température, pollution...etc) (**Maarouf et Raynaud, 2007**). Naturellement, les plantes doivent donc s'adapter pour faire face à des agressions biotiques et abiotiques (**Ishida et al., 2008**).

Parmi les contraintes environnementales, on peut distinguer suivant leur nature plusieurs types de stress. Les stress abiotiques induisent des changements physiologiques (**Langridge et al., 2006**) et des changements dans les processus cellulaires (**Chinnusamy et al. 2006 ; Talame et al., 2007**). Ils engendrent généralement une perturbation du potentiel hydrique chez les plantes (**Atienza et al., 2004 ; Verslues et al. 2006**), compensée par une fermeture des stomates, suite à une perte de turgescence dans les cellules de garde, ou une diminution de la pression osmotique cellulaire (**Langridge et al., 2006**).

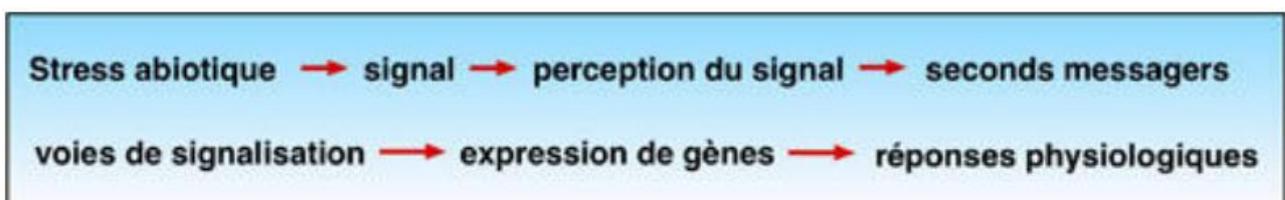


Figure2 : Séquence de réaction au stress (Laurent et al., 1991)

Les stress peuvent également affecter le fonctionnement de la plante en perturbant les flux ioniques (Langridge et al.,2006) ou en altérant les parois ou membranes cellulaires (Zhu,2001 ; Wang et al.,2003). Les tissus doivent alors mettre en place plusieurs mécanismes d'adaptation afin de limiter les dégâts engendrés par le stress (Verslues et al., 2006).

2.2 Le stress hydrique

Le déficit hydrique est une contrainte permanente de la production agricole dans de nombreux pays au climat de type méditerranéen. Elle est à l'origine des pertes de production agricole dans de nombreuses régions. Les risques du manque d'eau sont et deviendront de plus en plus fréquents et persistants, à l'avenir, par suite des changements climatiques causés par l'effet de serre (Witcombe et al., 2009). Passioura (2004) définit le déficit hydrique comme étant les circonstances dans lesquelles les plantes accusent une réduction de croissance et de production suite à une alimentation hydrique insuffisante. Tardieu (2005) mentionne que le statut hydrique de la plante passe progressivement par trois principales phases, selon le développement du stress hydrique. Au cours de la phase initiale, la transpiration et l'assimilation se déroulent comme si la plante dispose de l'eau à volonté. Cette phase se poursuit jusqu'au moment où le niveau d'absorption racinaire ne peut plus satisfaire la demande climatique que subit le feuillage. La réserve utile du sol est alors épuisée à 50 %. Après ce seuil, la plante entre dans la seconde phase, au cours de laquelle la transpiration et l'assimilation sont réduites relativement au potentiel. La plante réagit de façon dynamique au cours de cette phase, pour rétablir l'équilibre entre la demande climatique et l'offre du sol, faisant intervenir des mécanismes qui lui sont propres dont le développement du système racinaire, la régulation stomatique et/ou l'ajustement osmotique.



Figure 3 : Mécanisme de réponse des plantes a la secheresse et les caracteres impliqués dans la réponse (De leonardis et al, 2010)

Quand le déficit hydrique devient plus intense, alors la plante entre dans la troisième et la dernière phase au cours de laquelle les stomates se ferment complètement (Fig 3), annulant toutes activités photosynthétiques. Toutes les pertes hydriques de la plante se font alors à travers les voies non stomatiques (cuticule). Il n'y a plus de gain de matière sèche, la respiration consomme les hydrates de carbone stockés et la plante passe au stade de survie. La période de survie dépend du rythme de la transpiration résiduelle et de la tolérance à la dessiccation des tissus vivants restants.

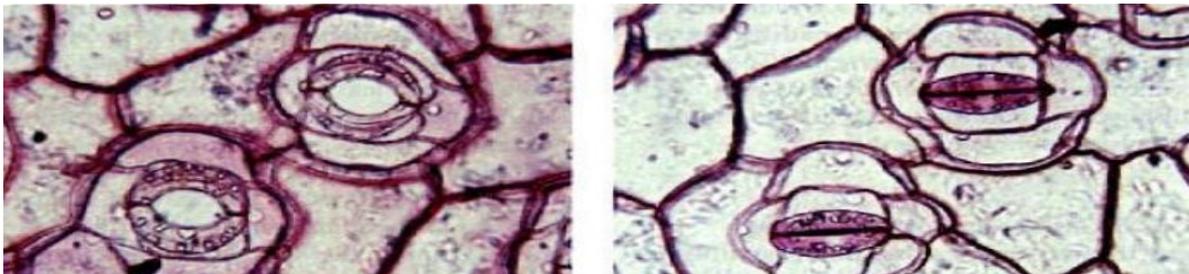


Figure 4: Fermeture des stomates lors d'un stress hydrique

Selon **Kameli et Losel (1996)** la croissance s'arrête avant qu'aucun abaissement notable ne soit perceptible dans le contenu relatif en eau. Le premier effet du déficit hydrique est de réduire la vitesse de croissance des cellules de la tige. Le déficit hydrique induit le dépôt de cire sur le limbe et la gaine de certaines variétés de céréales. Ce dépôt est d'autant plus marqué que l'environnement est plus sec. L'inflorescence des céréales est relativement protégée de l'évaporation par des surfaces protectrices comme une cuticule épaisse qui fait que le statut hydrique des inflorescences est meilleur que celui des feuilles (**Shepherd et Griffiths, 2006**). Le déficit hydrique provoque la réduction du nombre de grain par épi, du nombre d'épis par plant, du poids moyen du grain, de l'indice de récolte et du rendement grain (**Chenafi et al., 2006**). Sous stress hydrique, la matière sèche augmente progressivement, mais elle reste sous le seuil de 50%, comparativement à l'évolution de la matière sèche du témoin non stressé. Cette réduction est assez conséquente pour affecter significativement le rendement grain (**Bouzerzour et Benmahammed, 2009**). Le déficit hydrique affecte significativement les composantes du rendement. Le rapport poids des racines/poids des tiges augmente chez les plantes exposées au déficit hydrique, à cause de la croissance racinaire au détriment de la partie aérienne (**Benmahammed et al., 2008**). Parmi les solutés, accumulés sous stress hydrique, on note une augmentation des sucres solubles, des acides aminés comme la proline et à un degré moindre la glycine- bêtaïne, dont le rôle est la protection des membranes (**Hussain, 2006**).

2.3 Le stress oxydatif et son origine :

Une des conséquences des stress environnementaux, comprenant les stress hydrique et salin est l'apparition d'un stress oxydatif; c'est-à-dire l'accumulation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS). (**Smirnoff ;1993**). Elles sont produites pendant le métabolisme régulier mais leur production est drastiquement stimulée si les plantes sont exposées au stress comme des fortes intensités lumineuses, des faibles températures ou a la sècheresse. (**Dron ;2009**)

L'oxygène est a l'origine d'espèces réactifs de l'oxygène (EAO), des molécules ayant des effets a la fois bénéfiques et délétères conduisant a la mort cellulaire. Pour se protéger a cette toxicité, et pour permettre aux EAO d'intervenir dans la réponse physiologique, les plantes ont développé des mécanismes contrôlant l'accumulation de l'EAO. On connaît plusieurs sources d'EAO dans les différents compartiments de la cellule végétale. (**W.Droge ; 2002**)

Les EAO sont produites lors d'activités métaboliques telles que la photosynthèse et la respiration, et en réponse aux stress environnementaux. (**Curtin j.F et al ; 2002**) .

La principale source est la chaine de transporteurs des électrons de la machinerie photosynthétique (PS). Au niveau du PSI, le transfert sur le dioxygène d'un électron provenant des transporteurs d'électrons produit l'O₂⁻ . A partir de cette première espèce formée, d'autres EAO sont produites. Cette réaction évite que les transporteurs d'électrons de la chaine ne soient trop réduits, limitant ainsi le phénomène de photoinhibition. Cependant, dans les conditions des stress environnementaux, la production d'EAO lors de la photosynthèse devient néfaste pour la cellule .Au niveau de la mitochondrie, les transporteurs d'électron de la chaine respiratoire sont également susceptibles de céder un électron au dioxygène pour former O₂⁻. Ces réactions dites d'auto-oxydation des complexes d'électrons de la chaine respiratoire permettraient de dissiper un excès d'électrons. Le peroxydase est également une source d'EAO. Lors de la photorespiration, le ribulose 1.5 bisphosphate carboxylase/oxygénase peut utiliser le dioxygène pour produire deux glycolate a partir du le ribulose 1.5 bisphosphate. Le glycolate est alors transporté depuis le chloroplaste jusqu'au peroxydase. La glycolate peroxydase produit alors le peroxyde d'hydrogène en transformant le glycolate en glyxylate . Dans cet organite la B acide gras oxydase et la xanthine oxydase sont également des enzymes produisant respectivement H₂O₂ et O₂⁻ . (**Mittler.R ; 2004**).

3- Les radicaux libres :

3.1 Définition :

Un radical libre est une molécule ou un atome ayant un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui le rend extrêmement réactif (Vansant, 2004). L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé *espèces réactives de l'oxygène* (Favier, 2003).

L'appellation " dérivés réactifs de l'oxygène " n'est pas restrictive. Elle inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit, mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante tel que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), (Novelli, 1997).

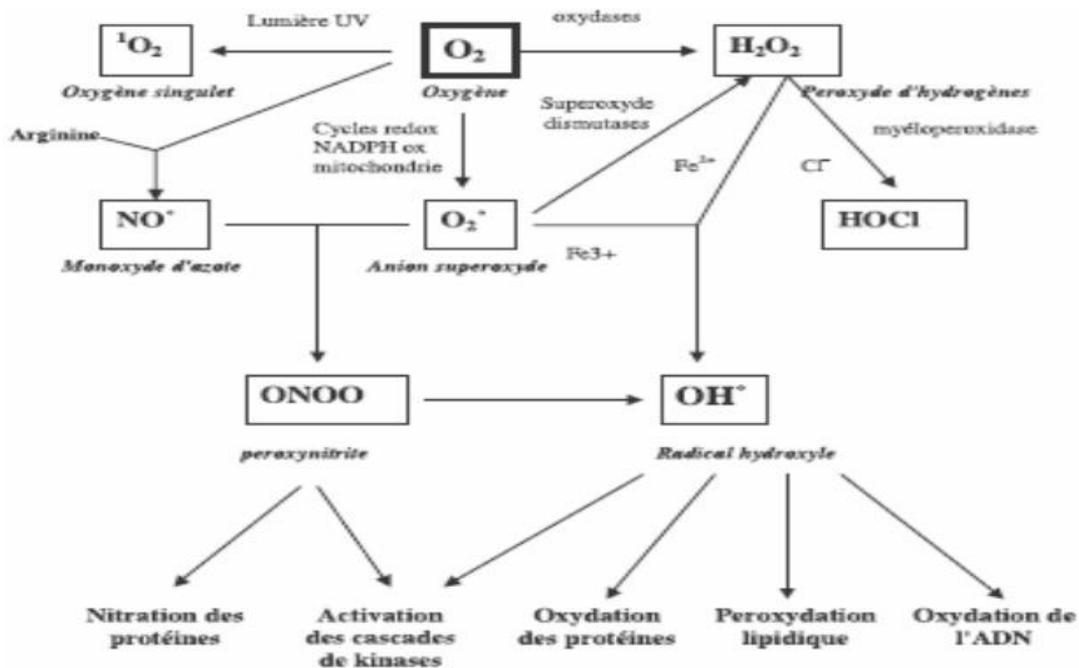


Figure 5 : Voie métabolique de l'O₂ et des ERO (espèces réactives d'oxygène). (Favier, A. 2003)

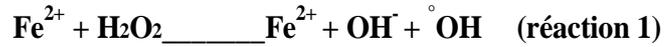
Les ERO peuvent être produites par des agents physiques comme les rayonnements, des réactions chimiques et surtout enzymatiques. En effet, toute réaction impliquant de l'O₂ et un système réducteur de transfert d'électrons est susceptible de libérer des ERO. C'est ainsi que la chaîne respiratoire provoque une libération importante d'ERO, mais dont l'intensité demeure controversée.

3.2 Principaux radicaux libres :

- l'anion superoxyde (O₂⁻) : la molécule d'oxygène, mise en présence d'une quantité d'énergie suffisante, peut acquérir un électron supplémentaire et former ainsi l'anion superoxyde. Cet anion intervient comme facteur oxydant dans de nombreuses réactions. $O_2 + e^- \rightarrow O_2^-$

- le radical hydroxyle (OH⁻) :

Il est très réactif vis-à-vis des structures organiques et joue un rôle initiateur dans l'auto-oxydation lipidique, il se forme soit par la dégradation du peroxyde d'hydrogène en présence de métaux de transition sous leur forme réduite : $2\text{O}_2 + 2\text{H}^+ \xrightarrow{\quad} \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$



ou par son action avec le radical superoxyde selon la réaction de haber Weiss (Figure 03):

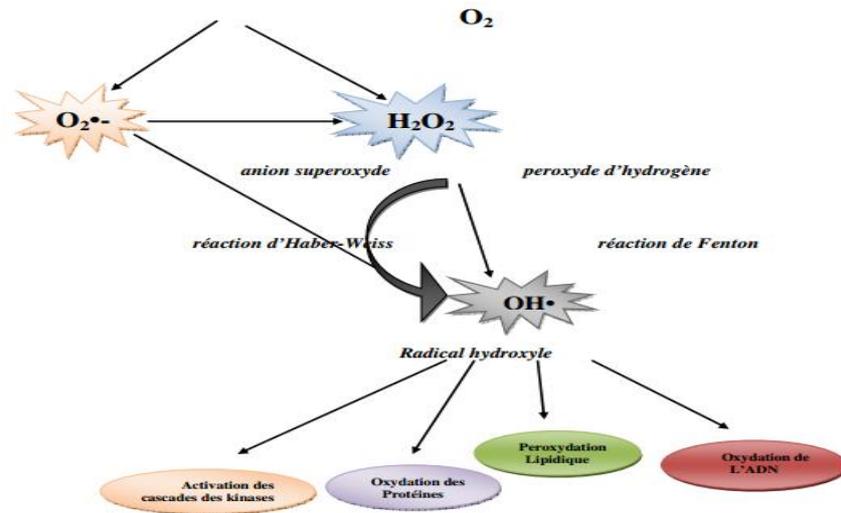
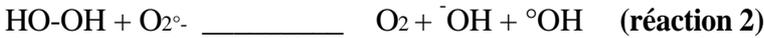


Fig 6 : Schéma des différentes formes de ROS

- l'oxygène singulet (O₂⁻) :

forme «excitée» de l'oxygène moléculaire,est souvent assimilée à un radical libre en raison de sa forte réactivité. (Hadi, 2004).

-Le peroxyde d'hydrogène H₂O₂ : également appelée dioxyde de dihydrogène ou eau oxygénée est très soluble dans l'eau, pénètre facilement les membranes biologiques, et peut provoquer la dégradation des protéines, la libération de Fe³⁺ ; l'oxydation de l'ADN, de lipides, ou encore de thiols, mais également l'inactivation d'enzymes. Sa capacité à traverser les membranes biologiques et à diffuser loin de son lieu de synthèse, fait du peroxyde d'hydrogène une des composantes utilisée par les cellules dans la signalisation intra et /ou intercellulaire. En effet, en faible concentration, il ne présente pas de toxicité pour la cellule. Cependant, en forte concentration, il induit une cytotoxicité par le biais des ROS qu'il génère. En se décomposant en anions hydroxyles et en radicaux hydroxyles par la réaction de Fenton en présence de sels métalliques (Fe²⁺ et Cu⁻), il devient toxique.

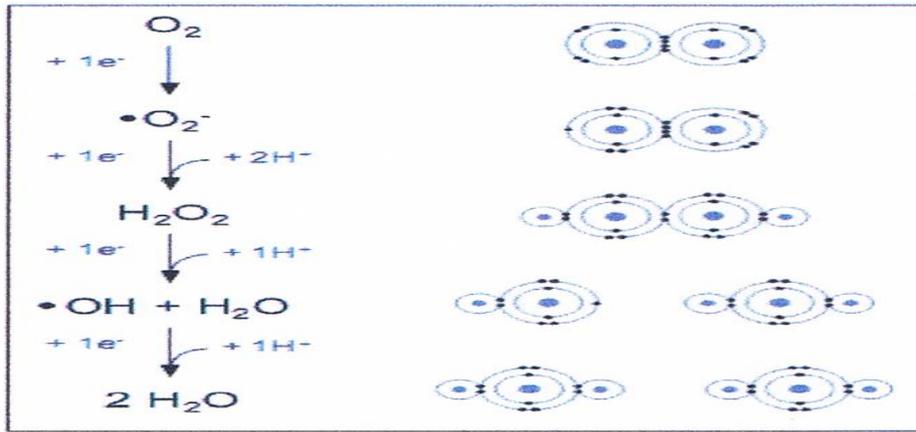


Figure 07 : Les différents stades de réduction d'oxygène

La combinaison de l'anion superoxyde avec deux protons (H^+) conduit à la formation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Ce (H_2O_2) n'est pas un radical libre mais une molécule avec tous ses électrons appariés qui présente une toxicité par intermédiaire des réactions de type Fenton (Réaction 1) (présence de cations métalliques comme Fe^{2+} ou Cu^{2+})(Wardman et, Candeias, 1996).

3.3 Sources des espèces réactives de l'oxygène (ROS) dans la cellule végétale :

Chez les plantes, il existe plusieurs sources cellulaires d'espèces réactives de l'oxygène localisées à divers endroits de la cellule ,et qui sont produites de façon permanente durant le métabolisme normale et durant les périodes de stress. Ces sources incluent :

- Les chaines de transport d'électrons (CTE) des chloroplastes.
- Les chaines de transport d'électrons (CTE) des mitochondries.
- La photorespiration dans les peroxyosomes.
- Les molécules photosensibilatrices comme la chlorophylle.

Tableau 2 : Origine et localisation des especes réactives d'oxygène (Smirnoff ;2005)

Origine	Localisation	ERO
Photosynthèse, PSI ou PSII	Chloroplaste	O ₂ [°]
Respiration (transport d'électrons)	Mitochondrie	O ₂ [°]
Glycolate oxydase	Peroxisome	H ₂ O ₂
Chlorophylles excitées	chloroplaste	O ₂ [°]
NADPH oxydase	Membrane cellulaire	O ₂ [°]
β-oxydation des acides gras	Peroxisome	H ₂ O ₂
Oxalate oxydase	Apoplaste	H ₂ O ₂
Xanthine oxydase	Peroxisome	O ₂ [°]
Peroxydases, Mn ²⁺ et NADH	Membrane cellulaire	H ₂ O ₂
Amine oxydase	Apoplaste	H ₂ O ₂ , O ₂ [°]

3.4 Quelles sont les cibles des ROS :

La présence des ROS (qui peuvent être soit des radicaux, mais aussi des molécules non radicalaires) par leur nature instable, sont capables de provoquer des conséquences potentiellement graves pour la cellule, qui s'expriment par :

- Des cassures et des mutations d'ADN.
- Inactivation des protéines et des enzymes.
- Oxydation des pigments, des sucres ...
- Mise en place de processus de peroxydation lipidique au sein des acides gras polyinsaturés des lipoprotéines ou de la membrane cellulaire. (Costa, V., Moradas, F ; 2001)

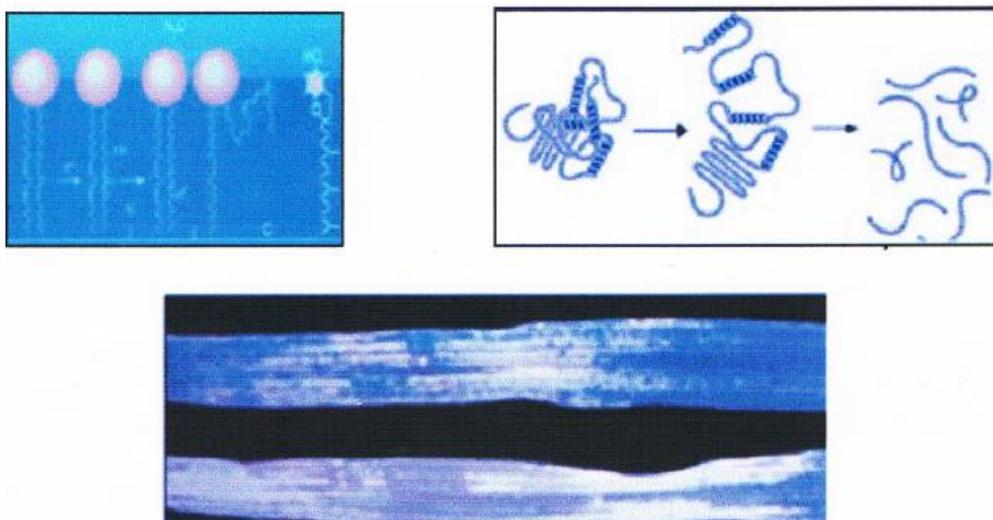


Figure 08: Effets nuisibles des ROS (Anonyme 2009).

Les organismes vivants possèdent des systèmes de défense ; ainsi à l'état physiologique il existe un équilibre "naturel" entre la production des radicaux libres et les systèmes antioxydants. Sous certaines conditions, il apparaît un déséquilibre provoqué soit par une production exagérée de

radicaux libres soit par une diminution des défenses antioxydantes sous l'effet de certains stimuli pathologiques endogènes ou exogènes. On parle alors de stress oxydant à l'origine bien souvent d'altérations moléculaires participant à de nombreux processus pathologiques. Cependant, il est difficile d'évaluer le rôle précis de ces ROS au cours des différents stades du processus pathologique. Les ROS ont longtemps été considérées comme des agents cytotoxiques en raison des dommages oxydatifs qu'elles causent à la cellule. Cependant, il est important de noter que les radicaux superoxydes peuvent jouer un rôle au niveau des mécanismes de signalisation cellulaire. (Gardès-Albert *et al*.,2003) .

4- Les systèmes de défense antioxydants :

L'organisme est déterminé d'un ensemble de systèmes de défenses antioxydants très efficaces afin de diminuer la concentration des espèces oxydantes dans l'organisme. Les antioxydants sont des systèmes enzymatiques ou non-enzymatiques (Mates J. M *et al* ;1999) .

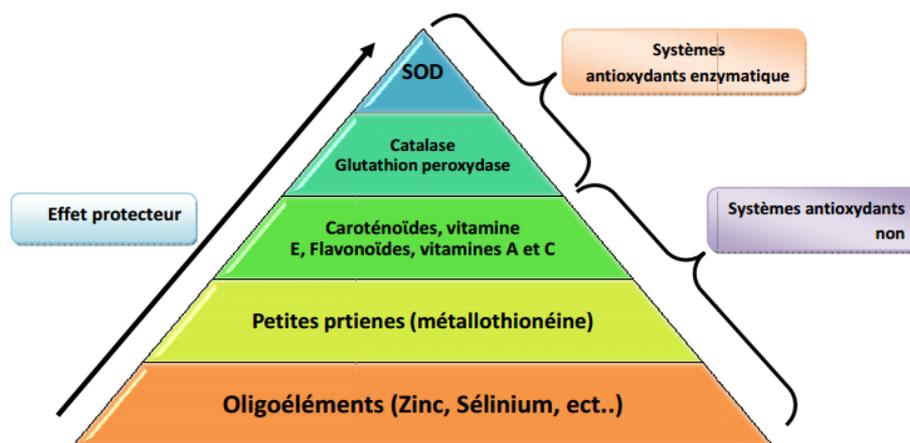


Figure 9: Pyramide des systèmes de défenses antioxydants

4.1 Systèmes antioxydants enzymatiques :

Les antioxydants enzymatiques (le superoxyde dismutase la glutathion réductase) sont considérés comme la première ligne de défense contre les différentes espèces oxydantes. Leur rôle principal est de diminuer la quantité des ROS dans la cellule. Parfois, ces enzymes nécessitent des cofacteurs comme les oligoéléments (Zn, Cu, Mn, Se, Fe) pour exercer leur activité enzymatique.

Tableau3 : Différents mécanismes des systèmes antioxydants (Mittler et al., 2001)

Mécanismes	Supprime (produit)	Localisation cellulaire
SOD	$O_2^{\cdot -}$ (H_2O_2)	Chl, Cyt, Mit et Per
Catalase	H_2O_2 (H_2O)	Mit, Per
Péroxidases	H_2O_2 (H_2O)	beaucoup de localisation
Ascorbate/cycle glutathion	H_2O_2 (H_2O)	Chl, Cyt, Mit, Per
Glutathion peroxydases	H_2O_2 (H_2O), hydroperoxydes de lipide	Chl, Cyt, Mit, ER
Système Peroxyrédoxines	H_2O_2 (H_2O), hydroperoxydes d'alkyles et Peroxynitrates	Chl, Cyt, Mit, Nucl
Systèmes Thiorédoxine	H_2O_2 (H_2O)	Chl, Cyt, Mit
Systèmes Glutarédoxines	H_2O_2 (H_2O), hydroperoxydes d'alkyles et Peroxynitrates	Chl, Cyt, Mit, sec
Carotens et tocopherol	O_2 (O_2)	Chl

Avec :

Chl : chloroplastes ; **Cyt** : Cytosol, **ER** : réticulum endoplasmique,
Mit : mitochondries, **Nucl** : nucléique, **Per** : peroxysomes,
Sec : Voies de sécrétion

4.1.1 Superoxyde dismutase (SOD) :

Les SOD sont les premières enzymes à intervenir dans la cascade des ROS. Ce sont des métalloprotéines qui catalysent la dismutation des ions superoxydes ($O_2^{\cdot -}$) en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et oxygène (O_2). (Powers S. K et al, 1999). Les SOD se différencient par leur localisation cellulaire et par leur cofacteur métallique : SOD à Manganèse (Mn-SOD) dans les mitochondries, à ions cuivre ou à zinc (Cu/Zn-SOD) dans le cytoplasme et les mitochondries. (Faridovich I,1995). Il a été nouvellement montré que la (Cu/Zn-SOD) était également présente dans l'espace inter membranaire. (Sturtz L. A et al ;2001).

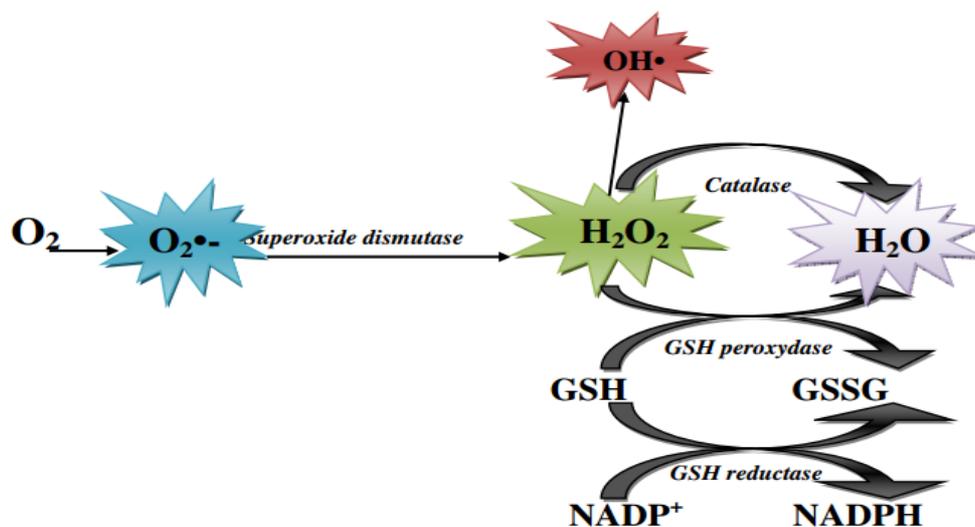


Figure 10 : schéma de système de défense antioxydant enzymatique

4.1.2 Glutathion peroxydase (GPx) :

Elle agit en synergie avec SOD puisque son rôle est d'accélérer la dismutation de H_2O_2 en H_2O et O_2 . (Arora et al ; 2002)

4.1.3 Catalase (CAT) :

Sont des enzymes majoritairement peroxysomales catalysant la dismutation du peroxyde d'hydrogène (Arora et al ; 2002)

4.1.4 Les peroxydases (POX):

Sont une large famille multigénique d'enzymes hémiques catalysant la réduction d'un substrat oxydé en utilisant de nombreux co-substrats comme donneurs d'électrons. (Arora et al ; 2002)

4.1.5 Malondialdéhyde MDA

Le MDA est l'un des produits terminaux formés lors de la décomposition (oxydation) des acides gras polyinsaturés (PUFA) médiée par les radicaux libres. Les taux élevés de MDA signent donc un stress oxydatif portant notamment sur l'oxydation des lipides (Chebab et al, 2009).

La détection spectrophotométrique du malonedialdéhyde (MDA) par le test à l'acide thiobarbiturique (TBA) est la méthode la plus ancienne et la plus populaire pour mesurer la peroxydation lipidique. Cependant, la MDA reste un indice peu représentatif de la présence d'une peroxydation lipidique puisqu'elle ne représente qu'un pourcent des produits de décomposition des peroxydes lipidiques (Pincemail et al, 1999). Néanmoins de nombreux laboratoires dans le monde reposent sur ce dosage pour évaluer l'augmentation ou la diminution du MDA afin d'évaluer les effets des traitements antioxydants.

4.2 L'hormone végétale ABA

L'acide abscissique (ABA) est une phytohormone initialement impliquée dans l'abscission des feuilles et la dormance des bourgeons. Aujourd'hui, l'ABA est considéré comme le composant clé de l'adaptation des végétaux au stress abiotique, notamment la sécheresse et le stress salin (FINKELSTEIN et al., 2002).

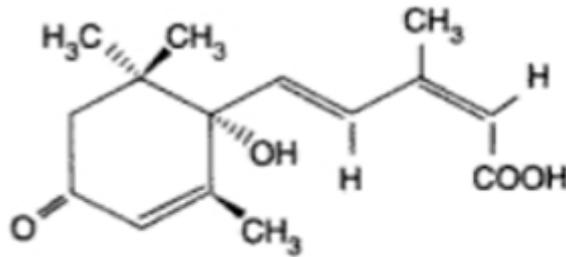


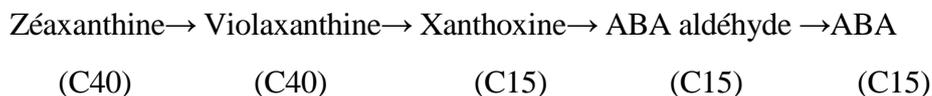
Figure 11 : Structure biochimique de l'acide abscissique (ABA) (HOPKINS, 2003)

4.2.1 Nature chimique -biosynthèse :

L'acide abscissique (ABA) est un sesquiterpène appartenant à la grande famille des isoprénoïdes. Ces molécules ont pour origine commune la polymérisation de deux précurseurs à cinq atomes de carbone : l'isopentényl phosphate (IPP) et son isomère, le diméthylallyl pyrophosphate (DMAPP).

Deux voies de biosynthèse ont été successivement proposées pour l'ABA, la première dite voie en C15 correspondrait à la condensation de 3 molécules d'isopentényl pyrophosphate selon un mécanisme analogue à celui de la synthèse des Gibbérellines (KERMODE, 2005).

La deuxième voie dite en C40 a été caractérisée plus récemment, elle correspond à une coupure de caroténoïdes en C40 du type zeaxanthine selon la séquence :



Au total il est maintenant admis que la voie en C15 n'est pas opérationnelle chez les plantes mais chez certains champignons, la totalité de l'ABA venant de la voie C40 chez les organismes chlorophylliens ou la synthèse de l'ABA a d'ailleurs lieu dans les chloroplastes en caroténoïdes. (la zéaxanthine époxydase correspond à un ADNc présentant une séquence d'adressage vers le chloroplaste)

Le catabolisme de l'ABA procède via une hydroxylation pour donner le 8 hydroxy ABA ensuite converti en acide phaséique, l'ABA 8hydroxylase est une monooxygénase à phytochrome P50. Cette dégradation intervient, par exemple lors du retour à un état hydrique normal après une période de sécheresse pour réduire le taux d'ABA (CHAUHAN *et al.*, 2009)

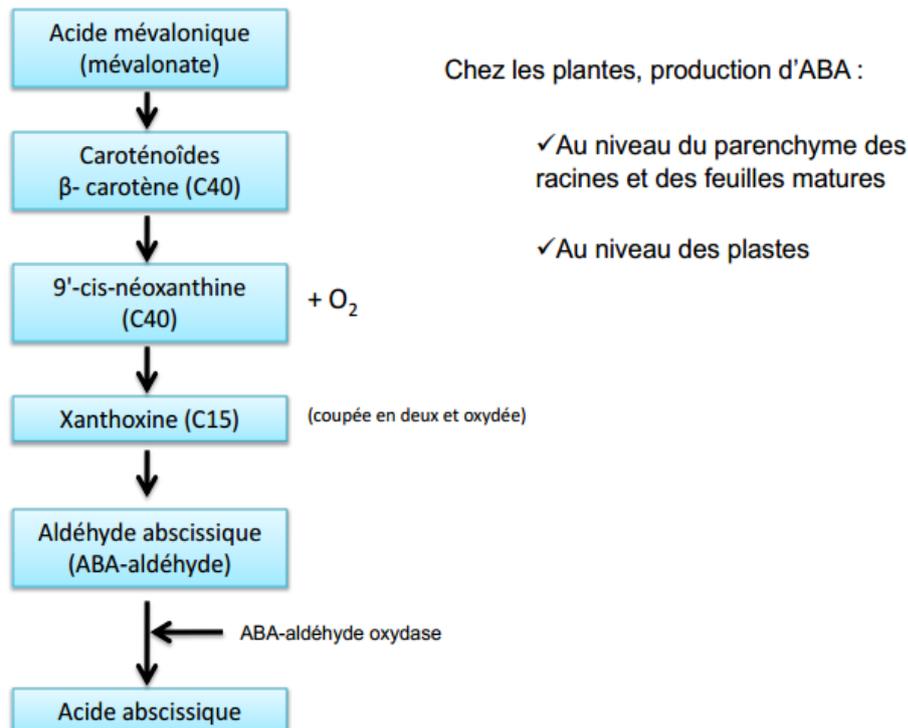


Figure 12 : Voie de biosynthèse de l'ABA

L'ABA peut également être converti en formes conjuguées inactives :

- ABA glucosyl ester sur le COOH
- ABA glucoside sur l'OH de carbone asymétrique

Au cours de la période hivernale on assiste chez certaines espèces à une interconversion entre formes libres et formes conjuguées.

L'ABA peut également être converti en formes conjuguées inactives :

- ABA glucosyl ester sur le COOH.
- ABA glucoside sur l'OH du carbone asymétrique.

4.2.2 Effets physiologiques et mécanismes d'action :

L'ABA est une hormone régulant de nombreux processus physiologiques chez les végétaux comme la germination, la fermeture des stomates, l'initiation des racines secondaires, la régulation de la croissance foliaire ou encore les interactions plantes pathogènes (Tardieu *et al.*, 2010).

Initialement identifié comme agent pathogène responsable de l'abscission des fruits, son rôle dans la réponse des plantes aux contraintes environnementales (sécheresse, stress salin, stress osmotique, froid) a été intensément étudié ces dernières années (Hubard *et al.*, 2010 ; Raghavendra *et al.*, 2010 ; Fujita *et al.*, 2011)

Une hormone majeure pour les semences

L'ABA est défini comme un répresseur de la germination (**Finsh S et LeubnM,2006**). Un apport exogène provoque une inhibition de la germination, bien que le phénotype observé ne correspond pas à celui de la dormance (**Carrera et al.,2008**). De nombreux gènes impliqués dans la signalisation ABA au niveau de la graine mais également au niveau de la plante entière ont ainsi été isolés. On retrouve par exemple des gènes codants des protéines de type LEA, des facteurs de transcription, des protéines kinase et des phosphatases ainsi que de nombreux transporteurs et enzymes impliqués soit dans la synthèse d'osmoprotectants, soit dans le métabolisme des acides gras et/ou du carbone. À l'inverse, parmi les gènes réprimés par l'ABA nombreux sont ceux qui participent à la croissance et au développement (**Fujita et al.,2011**)

Cette phytohormone peut induire ou prolonger la dormance des graines quand les conditions environnementales ne sont pas optimales pour initier la germination. La maturation de la graine est également caractérisée par une accumulation des réserves et l'acquisition de la tolérance à la dessiccation.

Matériel et méthodes

1. Matériel végétal :

Le matériel végétal utilisé dans ce travail est constitué de trois variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf), Hoggar , Hedba et Sigus

Ces variétés sont répertoriées dans le catalogue officiel de l'ITGC- EL Khroub.

2. Mise en place de l'essai :

Cette étude est réalisée au niveau du laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologie Végétale (GBBV), équipe2 " Biotechnologie et Amélioration des Plantes " à *Chaabat el R'ssas* au niveau de l'université Mentouri .

3. Dispositif expérimental et conduite de l'essai :

L'expérimentation consiste à tremper les graines de trois variétés de blé dur pendant 8h puis les transporter dans des boîtes contenant du papier filtre imbibé d'eau.

Les boîtes sont ensuite mises en pré-germination dans l'obscurité et à une température ambiante d'environ 25°C, afin de provoquer le gonflement de caryopses. Après 48h, on a effectué une application exogène d'ABA a deux niveaux (8h et 16h) puis on les a remis dans les boîtes contenant du papier filtre imbibé d'eau pendant 24h. Après traitement par l'ABA, On a effectué une culture hydroponique pendant quatre semaines , .

Dans des bacs en plastique, on a placé des pots de 10cm de diamètre et 14cm de hauteur remplis a moitié de sable puis ils ont été émergés dans une solution nutritive BD.(Tableau N°4) Dans ces derniers, on a repiquée nos jeunes plantules à raison de 6 plantules par pot (Fig 13)



Figure 13: Disposition de l'essai

Tableau 4 : Composition du milieu BD

Solutions mères	Pour 100 ml	Volume a préparer
CaCl ₂ · 2H ₂ O	29.4g	5ml/10L
KH ₂ PO ₄	13.6g	5ml /10L

MgSO ₄ 7H ₂ O	12.3g	5ML/10L
K ₂ SO ₄	8.7g	
MnSO ₄	0.034g	
Fe,EDTA	0.734g	12.5ml /10L
Oligoélément :	Pour 500ml :	5ml /10 L
H ₃ BO ₃	0.1235g	
MgSO ₄ 7H ₂ O	0.144g	
Cu SO ₄ 5H ₂ O	0.05g	
CoSO 7H ₂ O	0.028g	
NaMoO ₄ 2H ₂ O	0.024g	

La solution nutritive a été changée une fois par semaine pendant 4 semaines, au stade troisieme feuille.

L'étude de la réponse des trois variétés de blé dur face au stress hydrique a été réalisée au stade trois quatre feuilles, par l'application d'un stress hydrique a deux niveaux (2h et 4h) tout en conservant les autres conditions de culture : une température ambiante de 27°C et une humidité de 49%.

4. Paramètres étudiés :

4.1 Paramètres physiologiques :

4.1.1 La résistance stomatique :

La résistance stomatique a été mesurée à l'aide d'un Poromètre type Delta Devices MK3



Figure. 14 :Mesure de la résistance stomatique

En premier lieu, on fait l'étalonnage de l'appareil; puis on lance la lecture. Il s'agit d'insérer la partie médiane de la feuille dans la pince (**Herbinger et al., 2002**). Les données de la résistance stomatique sont stockées dans l'appareil de mesure et ensuite transférées vers un ordinateur pour leur traitement.

4.1.2 L'intégrité membranaire.

Le pourcentage d'intégrité cellulaire A été évalué par la méthode de **Thiaw (2003)** qui consiste à mesurer la libération d'électrolytes suite à la destruction partielle de la membrane plasmique. Pour commencer nous devons tout d'abord prélever trois échantillons de chaque niveau de stress, les rincer soigneusement avec de l'eau désionisée, les couper en petits morceaux de 1cm et les recueillir dans des tubes à essai contenant 10ml d'eau distillée. Ces derniers ont été fermés hermétiquement et incubés pendant 30minutes à une 50°C (fig. 15).



Figure 15: incubation des échantillons a 50°C

La deuxième lecture est effectuée après avoir autoclaver les tubes à 100°C pendant 30minutes.

L'intégrité cellulaire est calculée comme suit :

$$\text{IC \%} = (\text{M1} / \text{M2}) \times 100$$

4.2 Paramètres biochimiques :

4.2.1 Dosage de l'acide abscissique par la technique de chromatographie liquide à haute performance (HPLC) :

a) Principe de la chromatographie :

La chromatographie est une méthodes d'analyse permet la séparation ou la purification d'un ou de plusieurs composés d'un mélange en vue de leur identification et de leur quantification. La chromatographie en phase liquide a permis de réaliser des analyses qui n'étaient auparavant pas possible avec les techniques sur couche mince ou en phase gazeuse. A l'origine la chromatographie en phase liquide se faisait sur des colonnes en verre. Le liquide traversait la phase stationnaire par gravité ou sous faible pression. Puis pour augmenter le débit, des manipulations ont été réalisées sous pression plus forte. C'est ce que l'on a appelé la chromatographie liquide sous haute pression (HPLC). Très rapidement le P de pression est

devenu le P de performance lorsque l'on a optimisé la technique (diminution de la taille de particules de la phase stationnaire, régularité de cette phase...). en chromatographie liquide à haute performance (HPLC) la séparation des composés se fait par des interactions avec la phase stationnaire et avec la phase mobile. Ces interactions sont primordiales.

L'échantillon est entraîné par la phase mobile au travers de la phase stationnaire qui a tendance à retenir plus au moins les composés de ce dernier à l'aide de différentes interactions. Les composés à séparer (solutés) sont mis en solution dans un solvant. Ce mélange est introduit dans la phase mobile liquide (éluant). Suivant la nature des molécules, elles interagissent plus ou moins avec la phase stationnaire dans un tube appelé colonne chromatographique.

La phase mobile poussée par une pompe sous haute pression, parcourt le système chromatographique. Le mélange à analyser est injecté puis transporté au travers du système chromatographique. Les composés en solution se répartissent alors suivant leur affinité entre la phase mobile et la phase stationnaire. En sortie de colonne, grâce à un détecteur approprié, les différents solutés sont caractérisés par un pic .L'ensemble des pics enregistrés est appelé chromatogramme (**Skoog, 2010**).

La concentration de l'acide abscissique est calculée a partir de la courbe d'étalonnage selon la formule suivante : $y = 6.3376x - 64.583$ (**Annexe 1**)

b- Extraction de l'acide abscissique (ABA)

selon **Zhou, 2003** l'extraction de l'ABA consiste à :

- Peser 300 mg de matière fraîche des feuilles et des racines des échantillons témoins et stressés et puis la broyer avec de l'azote liquide à l'aide d'un mortier et un pilon et les placer dans des tubes Eppendorf de 1.5ml.
- Ajouter au broyant 750µl de solution d'extraction puis passer au sonicateur pendant 5 min
- Centrifuger 2 min à 4°C et à 10 000 rpm.
- Récupérer le surnageant délicatement dans un nouveau tube sans détacher le culot et re extraire ce qu'on a récupéré avec 750µl de la solution d'extraction, passer au sonicateur pendant 30 min puis centrifuger 2 min à 4°C à 10 000 rpm et ajouter le deuxième surnageant.

- Evaporer le tampon d'extraction en versant les échantillons dans des boîtes Pétri puis dans un lyophilisateur à pression de 0.133 mBar et une température de - 46°C. Après avoir séché les boîtes, le culot est récupéré avec 200 µl de solvant d'extraction et filtré (Whatman-Glass microfibre filters) pour passer à l'analyse.

a) **Préparation de la gamme étalon**

La reproductibilité et la linéarité du système chromatographique a été estimée par cinq injections consécutives de différentes concentrations de ABA ainsi que des échantillons enrichis des feuilles et des racines du blé dur. La solution mère (1000 µg/ml) de l'ABA pur a été préparée en dissolvant 25 mg d'ABA dans 25 ml d'acétonitrile de qualité HPLC. Les échantillons d'étalonnage de concentration de 1, 5, 10, 50 et 100 µg/ml ont été préparés par dilutions successives de la solution. (Thompson et al., 2002).

4.2.2 Dosage de Catalase :

Le dosage de la catalase est effectué selon la méthode de **Chance and Maehly (1955)** .

La décomposition du peroxyde d'hydrogène est déterminée par la diminution de l'absorbance à 240 nm ($\epsilon=39.4 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

Le mélange réactionnel contient 2.9ml de 0.1M tampon phosphate pH7.0 (Annexe 2)et 0.1ml de 20mM du peroxyde d'hydrogène, 10 µl de l'échantillon. La lecture est effectuée à 240nm directement après l'addition de l'extrait enzymatique, à chaque minute, durant 2 ou 3 min au maximum.

Calcul de l'activité de la CAT :

$$\text{Activité catalase} = \text{Abs} \times V_{\text{total}} / \epsilon \times V_{\text{Echantillon}}$$

$\epsilon : 36\text{M}^{-1}/\text{cm}$

4.2.3 Dosage de la Peroxydase :

Le dosage de la peroxydase est effectué selon la méthode de **Chance et Machl(1967)**, il consiste à prendre 0.5ml de l'extrait enzymatique et l'ajouter au mélange réactionnel contenant 2ml de tampon phosphate 0.1M pH 6.8, 1ml de H₂O₂ 0.05M. Le mélange est incubé à 25° pendant 5min. La réaction est arrêtée par l'addition de 1ml de 2.5M de NH₂SO₄.

Le blanc est préparé par l'addition de l'extrait enzymatique après H₂SO₄ et l'activité enzymatique est exprimé en unité soit 0.1 mn⁻¹ mg⁻¹ de protéine.

Calcul de l'activité peroxydase :

$$\text{Activité} = (\Delta \text{DO} / \Delta t) \times (1/\epsilon) \times (V_c / V_{\text{ext}})$$

$\Delta \text{DO} / \Delta t$: pente de la courbe de la densité en fonction du temps

ϵ : Coefficient d'extinction = 26.6cm²/μmole

V_{ext} : volume de l'extrait

V_c : volume de la cuve

4.2.4 Mesure de l'activité enzymatique SOD :

L'extraction a été réalisée avec **50 à 100mg** de feuille et racine dans l'azote liquide, puis broyées mécaniquement à l'aide d'un mortier, ensuite les tubes sont conservés à -80° afin d'empêché la dégradation des enzymes jusqu'à utilisation.

Les feuilles et racines sont récupérées et mis dans une solution tampon d'extraction Tris-HCL PH =7.8 (**annexe 3**), puis refroidie à 4°C. L'homogénat est centrifugé à froid pendant 15minutes à 10.000 rpm. Le surnageant ainsi obtenu est utilisé en tant que source de superoxyde dismutase.

L'activité superoxyde dismutase (SOD) est déterminée en utilisant la méthode de **Beauchamp et Fridovich (1971)**, qui mesure par spectrophotométrie à 560 nm l'inhibition de la réduction photochimique du nitrobleu de tétrazolium (NBT) (**Annexe 5**). Une unité d'activité SOD est définie comme étant la quantité d'enzyme nécessaire pour une inhibition de 50% du taux de réduction du NBT. Les constituants du milieu réactionnel sont présents dans le tab.ci dessous 5) :

Tableau 5: La constitution du milieu réactionnel.

Réactifs	Echantillons	Témoin
Solution tampon de phosphate de potassium (annexe.01) 0.067 M , ph=7,8 (ml)	2,55	2,55
Solution d'EDTA disodique (annexe.04) 0.1 M, ph=7.8 (ml)	0,20	0,20
Extrait enzymatique : liquide de culture	0,10	0,10
Solution de NitroBleu Tertrazolium(NBT) (annexe.03) 1,5 Mm (Annexe 5)	0 ,1	0,1
Solution de riboflavine 0,12 Mm	0,05	0,05

L'échantillon et le témoin sont exposés à l'illumination, 5 minutes exactement, devant une lampe à néon, à une distance de 10 cm .On procède à la lecture des extinctions (absorbances) de l'échantillon et du témoin, à 560 nm, comparées à celles de l'eau distillée.

4.2.5 Dosage du malonedialdéhyde (MDA) :

Les feuilles et racines sont mises dans une solution tampon d'extraction TCA (**annexe.02.5**) 1% sous hôte. L'homogénat est centrifugé à froid 5min à 10.000 rpm. Le surnageant ainsi obtenu est utilisé en tant que source de MDA. La mesure de la concentration des MDA est déterminée en prenant 4ml de TCA à 20% TBA 0,5%. Puis on ajoute 1 ml de surnageant, le tout est placé pendant 30min dans un bain marie 95% .pour arrêter la réaction, les tubes sont placés dans la glace puis centrifuger à 10.000 rpm pendant 10 min. L'absorbance est mesurée par un spectrophotomètre à 532 nm puis à 600 nm.

L'activité MDA est calculée par la formule suivante :

$$\text{Activité (nmol/min/mg de protéines)} = \frac{\text{DO/ mn} \times 1000 \times V_{\text{ext}}}{\epsilon \times V}$$

.Les résultats sont exprimés en mmol/min

DO/mn : variation de densité optique par minute

V : volume de l'échantillon en ml (1ml)

Vext : volume de surnageant (1ml)

ε : coefficient d'extinction molaire 155mM⁻¹/cm

5. Traitement des données

Les résultats sont soumis à l'analyse de la variance à deux facteurs (logiciel Statistica). Les moyennes et histogrammes ont été calculés par l'excel 2007.

Résultats et discussion

1- Paramètres physiologiques

1.1 La résistance stomatique

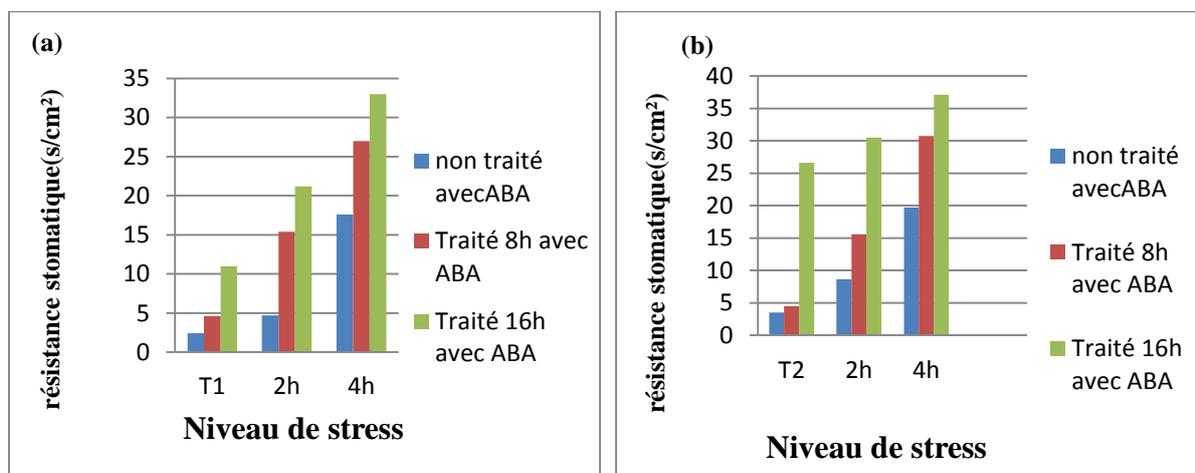
Une nette augmentation de la résistance stomatique est observée chez la plupart des génotypes étudiés dans le 2eme niveau de stress (4h). On observe que la résistance stomatique augmente successivement selon l'intensité du stress, mais le taux d'augmentation reste en corrélation avec la variété étudiée.

Sous les conditions non déficitaires, les différents génotypes présentent des résistances stomatiques faibles. Nos résultats permettent de dire que le stress hydrique a un effet significatif sur la résistance stomatique, quelque soit le génotype étudié, cette dernière varie selon l'intensité du stress, pour les témoins non traités avec l'ABA on observe une faible Résistance stomatique qui varie entre (2,42 s/cm²). (3,5s/cm²)et de 0.47s/cm² notées successivement chez les variétés Hogar Hedba et Sigus (figure 16)

Concernant le traitement par l'ABA, on remarque que L'augmentation de la résistance stomatique est plus élevée par rapport à la durée de traitement par ce dernier, La Rs est plus élevée chez les génotypes traités 16h avec l'ABA en les comparant avec ceux qui sont traités 8h avec l'ABA.

La figure 16, montre que cette augmentation de la RS d'un niveau du stress à un autre diffère selon le génotype étudié. En condition lors d'un stress sévère (traitement 16h avec l'ABA et 4h de stress hydrique) (figure. 16), on observe une augmentation remarquable de ce paramètre, Elle atteint une valeur maximale de l'ordre de 38,11 s/cm² notée chez la variété Sigus suivie par Hogar avec 33 s/cm², et Hedba3 : 37,12 s/cm².

Bousba et al., (2009) ont montré que le blé répond au stress hydrique par une augmentation de la résistance stomatique. La fermeture stomatique rapide est la meilleure adaptation au stress hydrique, elle permet à la plante d'économiser l'eau disponible et de maintenir une teneur en eau des tissus élevés (**Djekoun et Planchon, 1992 ; Djekoun et Ykhlef, 1996**).



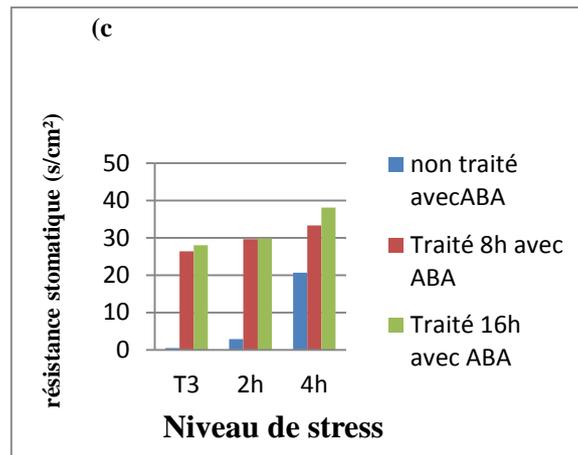


Figure16 : Variation de la résistance stomatique chez les trois variétés étudiées sous deux niveaux de stress hydrique (2h et 4h) et traitement avec l'ABA

1.2 Intégrité membranaire

Les mesures de la conductivité (Fig 17) indiquent que globalement, les feuilles des plantes stressées perdent autant d'électrolytes que celles des témoins.

Les résultats obtenus montrent que le pourcentage de fuite d'électrolytes chez les plantes stressées est supérieur à celui obtenu chez les plantes témoins, ça s'explique par une altération de l'intégrité membranaire des cellules lors du stress, donc ça révèle une différence nette entre les plantes témoins et les plantes stressées.

En effet l'analyse de la variance révèle une différence hautement significative ($p = 0.02\%$) apparaît entre les pourcentages de fuite d'électrolytes enregistrés chez les plantes stressés par rapport aux témoins. et un effet non significatif du traitement par l'ABA.

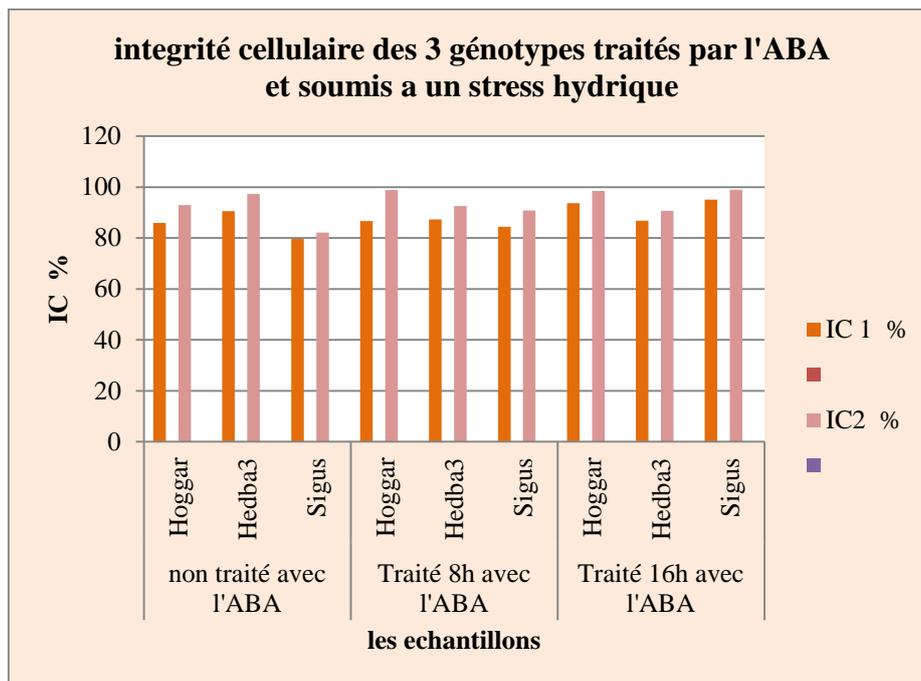


Figure 17 : Pourcentage de l'intégrité membranaire chez les géotypes sous stress (4h) et témoins (IC1 : Témoins . IC2 : stressés 4h) chez l'ensemble des variétés étudiées

Bajji et al (2001) ont montré que le maintien de l'intégrité de la membrane cellulaire et de sa stabilité dans des conditions de déficit hydrique est une importante composante de la tolérance à la sécheresse chez les plantes, car la membrane cellulaire est l'une des premières cibles de la contrainte hydrique (**Levitt.,1972**).

2- Paramètres biochimiques

2.1 Dosage de l'ABA

Les résultats de la teneur en ABA dans les racines après analyse par HPLC ont montré que :

Le taux de cette phytohormone augmente chez la variété Hedba3 contrairement aux autres variétés qui montrent une diminution de ce dernier après privation d'eau,

On note une concentration de (410.73 ug/300mg de MF) par rapport aux variétés Hoggar et Sigus qui présentent des valeurs (200 ug/300mg de MF) et (370.954 ug/300mg de MF)

Le traitement des variétés par l'ABA sans privation d'eau a permis d'observer une diminution de l'accumulation de ce dernier notée chez les variétés Hoggar et Hedba3 là où on

note des valeurs de (87,519 ug/300mg de MF) et (391,724 ug/300mg de MF) contrairement a Sigus qui enregistre une valeur de (500 ug/300g de MF)

Après l'application du stress hydrique d'une durée de 4h sur les génotypes traités par l'ABA, on remarque que les deux variétés Hoggar et Hedba3, se comporte de la meme manière vis-à-vis la contrainte hydrique et présentent une augmentation importante de la concentration d'ABA accumulée avec des valeurs (207,933 ug/300g de MF) et (727,617 ug/300g de MF) comparativement à la variété Sigus qui montre une diminution de la concentration d'ABA avec une valeur de 347,361 ug/300g de MF).

D'une manière générale, on peut dire que le stress hydrique provoque une diminution de concentration de l'ABA dans les racines des variétés stressées a l'exception de Hedba3,

Cependant et après traitement par par l'ABA pendant 16h les deux variétés (hedba 3 et hogar) présentent une augmentation de concentration de l'ABA , à l'exception de la variété Sigus qui marque une diminution de cette concentration .ça s'explique peut être par la consommation de l'ABA dans la défense contreles ROS

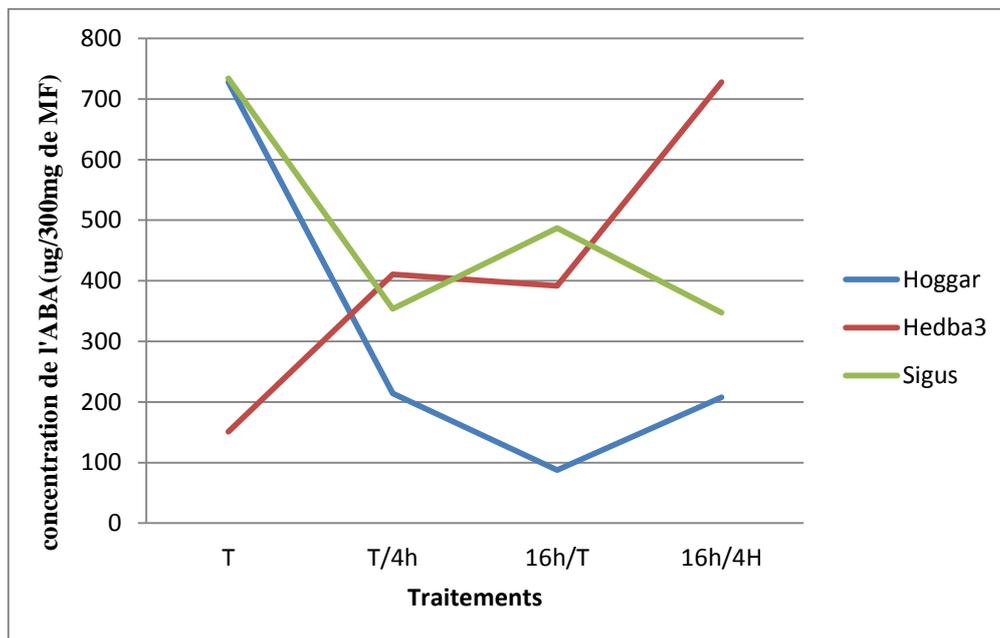


Figure. 18: Niveau de l'acide abscissique chez les trois variétés étudiées en condition de stress sévère (T : Non traité avec l'ABA et non soumis a un stress hydrique, T4h : Non traité avec l'ABA et soumis a un stress hydrique de 4h, 16h/T : Traité 16h avec l'ABA et non soumis a un stress hydrique, 16h/4h : Traité 16h avec l'ABA et soumis a un stress hydrique de 4h).

Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par **Davies & al. (1994)** qui ont montré que le traitement exogène par l'ABA et sous condition d'un stress hydrique les plantes présentent une réponse par l'accumulation des protéines de réparation de dommage, des enzymes et d'osmolytes qui peuvent aider au maintien de la stabilité membranaire (**Noraud et al., 2001**).

L'effet de l'acide abscissique (ABA) en tant qu'inducteur de la fermeture stomatique a été largement documenté (**Wartinger & al., 1990; Davies & Zhang, 1991**), mais il y a encore des incertitudes sur son origine et sur sa contribution exacte à ce phénomène (**Sumera I., 2001**). Le signal de la fermeture stomatique en conditions de sécheresse a été attribué à une production de l'acide abscissique (ABA) par les racines (**Meinzer & Grantz, 1999**), mais l'état hydrique de la plante entière reste un facteur important à considérer car il intervient sur la sensibilité des stomates par la concentration d'ABA produite dans les racines (**Salah & Tardieu, 1997**).

2.2 Dosage de l'activité de la catalase

Après l'application du premier niveau de stress (2h) l'activité catalase diminue chez tout les génotypes sauf chez la variété Hoggar traitée 16h avec l'ABA on observe une augmentation légère. (Fig 19 b)

Après l'application du deuxième niveau de stress (4h), l'activité catalase des génotypes non traités avec l'ABA et les génotypes traités 8h avec l'ABA diminue contrairement à celle des génotypes traités 16h avec l'ABA là ou on observe une augmentation chez les variétés Hedba3 et Sigus (Fig c), on peut traduire cette augmentation par une faible production de ROS. Ainsi, une telle concentration en ROS n'a pas d'effet majeur sur l'expression de cette enzyme.

D'après **Kim et al(2005)** Chez les céréales, la catalase est considérée comme un marqueur central dans la protection contre le stress oxydatif, principalement dans des conditions de stress abiotique. (**Kim et al., 2005**). **c'est une** enzyme oxydoréductase la plus universelle qui catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et dioxygène. Elle est requise pour la désintoxication des ROS dans la plante. (**Bhaduri A.M., Fulekar M.H., 2012**)

Ainsi, les travaux de **Kim et al** en 2005 et **Khosravinejad et al** en 2008, ont montré que l'activité de la catalase augmente dans les feuilles des céréales pendant un stress. De même, des plantes infectées avec des virus connaissent une augmentation de l'activité des enzymes du système antioxydant dont la catalase (**Gil-ad et al., 2001; Kim et al., 2009**). Cependant, dans notre étude, l'activité de la catalase diminue après le traitement avec l'ABA sauf pour la variété Hoggar qui augmente légèrement avant l'application d'un stress hydrique.(Fig 19 b)

La présence d'une activité catalase dans les feuilles peut s'expliquer par la présence de l'enzyme dans le peroxysome pour éliminer la peroxyde d'hydrogène qui se forme lors du cycle photorépiratoire suite a l'action de la glycolate oxydase (**Del Rio L.A et al., 2006**)

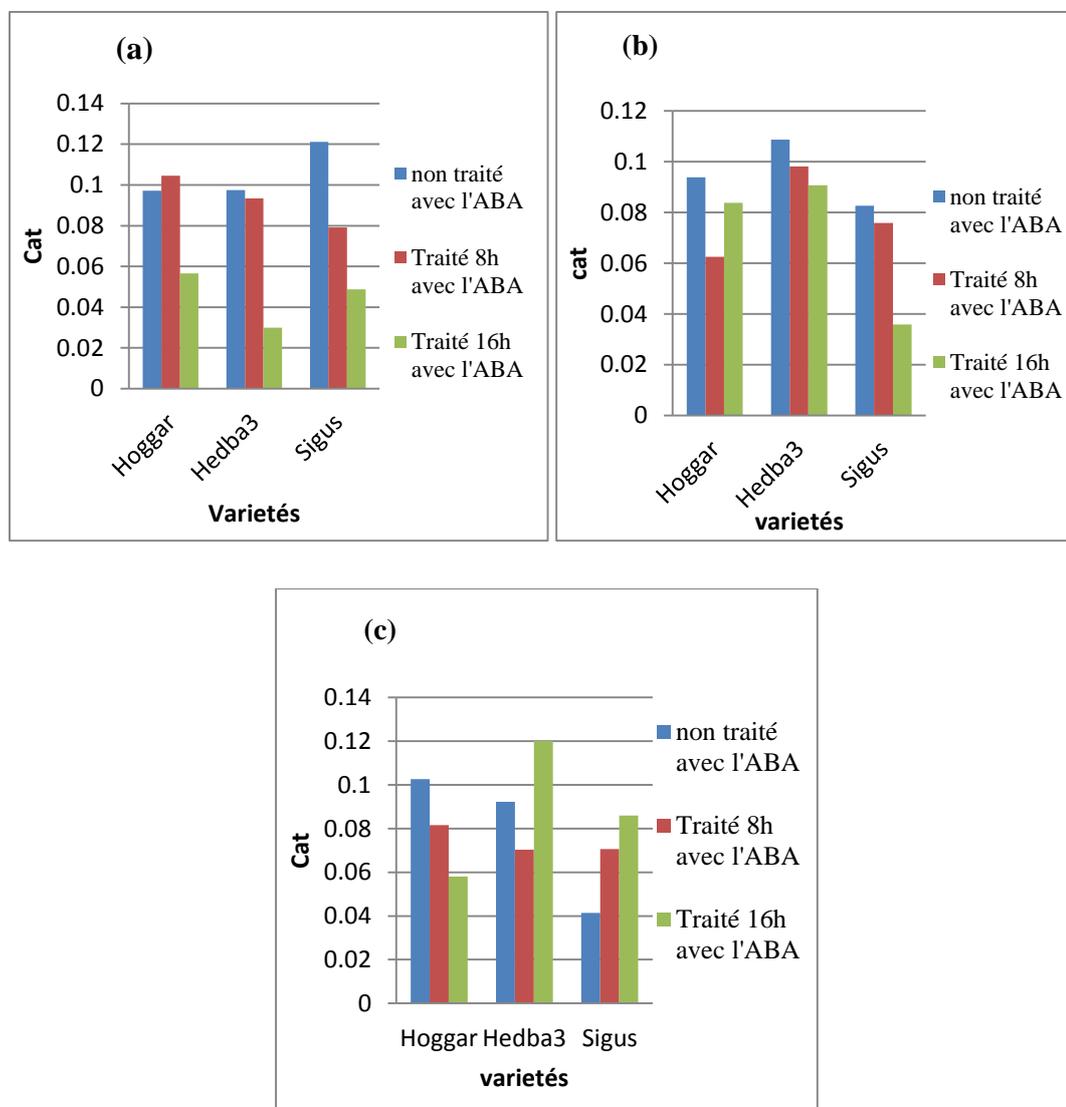


Figure 19 : Variation de l'activité Catalase chez les trois génotypes (a : Témoins , b :2h de stress hydrique, c :4h de stress hydrique)

2.3 Dosage de l'activité peroxydase

Avant l'application du stress et au premier niveau de stress, on observe que l'activité peroxydase reste faible chez les TROIS variétés ET sous différents niveaux de traitement avec l'ABA SAUF la variété Hoggar traité 8h avec l'ABA qui marque une augmentation remarquable au deuxième niveau de stress.

Après privation (4h de stress) d'eau, l'activité peroxydase augmente légèrement au niveau des feuilles des trois génotypes étudiés, en particulier les génotypes traité 8h avec l'ABA la ou on observe une activité très élevée et qui diminue presque totalement après traitement avec l'ABA pendant 16h

Cependant, l'activité enzymatique ne montre pas de différences majeures entre les génotypes témoins et stressés 2h, après lesquelles l'activité augmente sensiblement pour atteindre un maximum à 4 heures pour les variétés traités 16h avec l'ABA

La variation de l'activité des peroxydases est observée chez plusieurs espèces cultivées sous différents stress abiotiques et biotiques ,ces stress provoquent une augmentation des peroxydases dans les fractions solubles et ioniques préparées à partir d'écotypes tolérants.(**KHALES, A. et BAAZIZ ,M.,2006**)

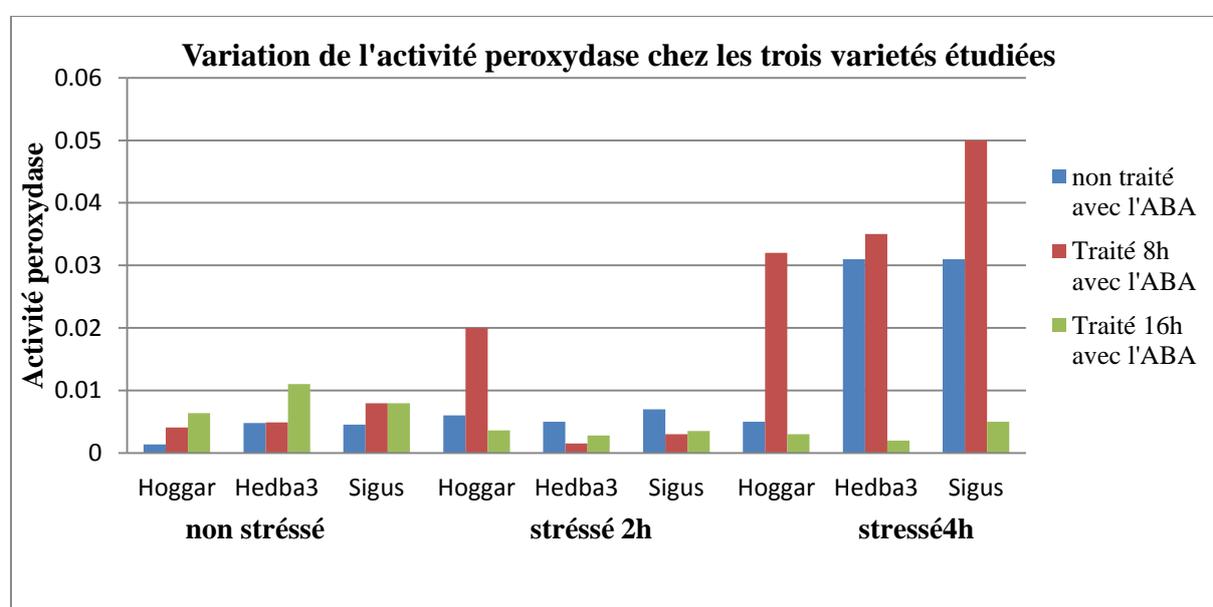


Figure20 : Variation de l'activité peroxydase chez les génotypes étudiés traité par l'ABA et soumis a deux niveau de stress hydrique

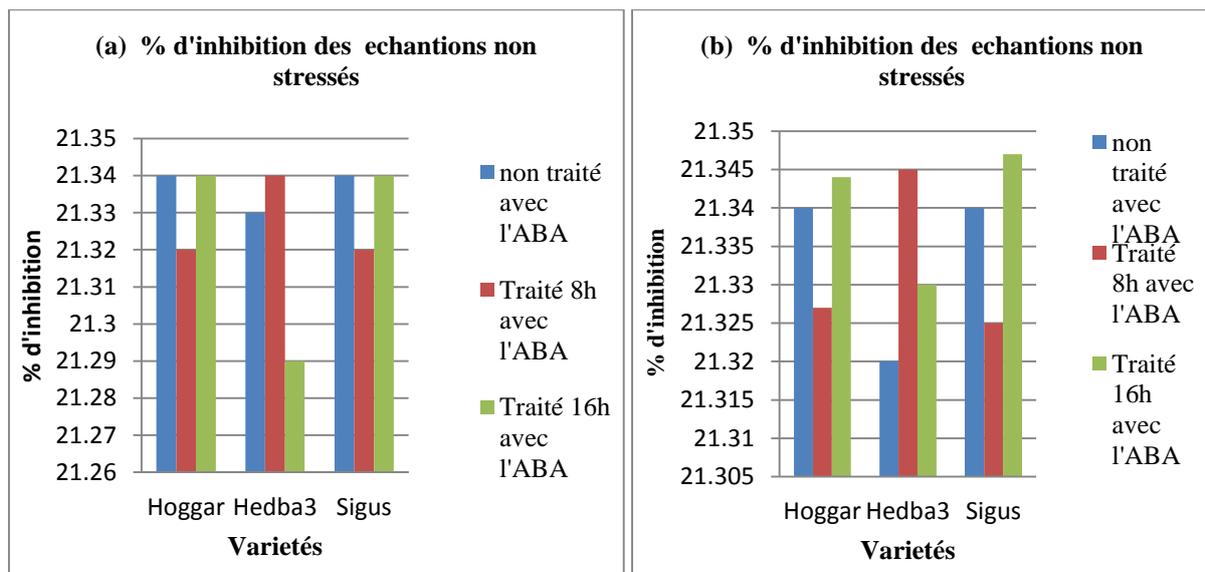
Selon Kim et al., 2005, l'activité de peroxydase Dans les conditions d'un stress abiotique reste faible par rapport à celle de la catalase. Cette diminution peut être également due a la production excessive de H₂O₂ qui devient un inhibiteur de la peroxydase et qui provoque donc la diminution de son activité (Asada K .1994)

2.4 Mesure de l'activité enzymatique SOD

Dans ce travail l'activité de la SOD diffère d'une variété a une autre selon le traitement et le stress appliqués .

Avant l'application du stress hydrique ainsi qu'au premier niveau de stress (2h), on constate que l'activité de la SOD diminue chez les Témoins et les traités 8h avec l'ABA des variétés Hoggar et sigus contrairement a la variété Hedba qui marque une augmentation légère avant l'appliquation du stress hydrique et une augmentation remarquable apres le premier niveau du stress , cette derniere peut s'expliquer par l'activation de mécanismes de défense par l'augmentation de d'activité enzymatique anti oxydantes notamment la SOD provoquée par l'accumulation des ROS.

Après le traitement 16h avec l'ABA , le pourcentage d'inhibition de la SOD augmente chez les variétés Hoggar et Sigus soumis a un stress hydrique de 2h en les comparant avec la variété Hedba qui marque un diminution de pourcentage d'inhibition de la SOD.



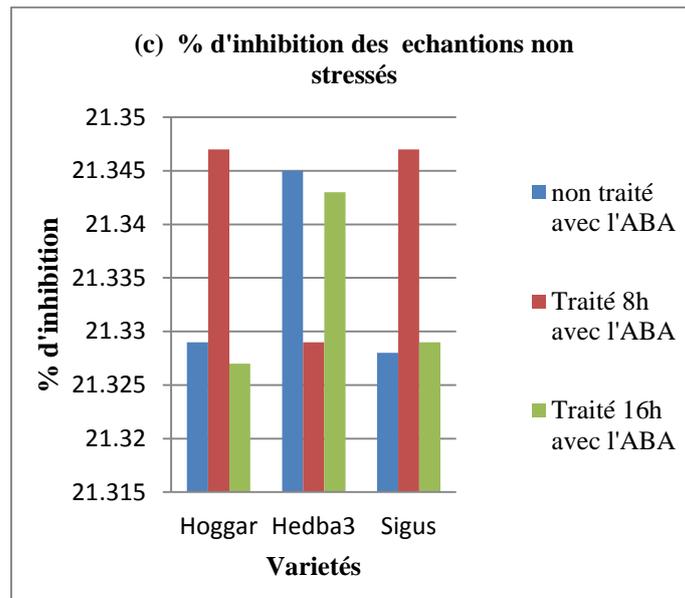


Figure 21 : Pourcentage d'inhibition de la SOD (a : témoins, b : 2h de stress hydrique, c :4h de stress hydrique)

Après l'application du deuxième niveau de stress hydrique(4h),la variété Hoggar et Sigus traité 8h avec l'ABA présentent une augmentation importante de pourcentage d'inhibition qui atteint 21.24% puis il diminue à 21.32% et après l'application de l'ABA pendant 16h contrairement à la variété Hedba3 dont le pourcentage d'inhibition diminue après le traitement 8h avec l'ABA et augmente jusqu'au 21,35% après le traitement 16h.

2.5 Dosage de MDA

La figure (22) montre que la teneur en MDA dans la diffère d'une variété à une autre selon le traitement appliqué et le niveau de stress. En effet, on observe une diminution de la teneur en MDA après l'application du stress hydrique pendant 2h chez les géotypes Hedba et Sigus et une diminution chez Hoggar (Fig 22 b). Mais pour les variétés traitées par l'ABA et soumis au même niveau de stress hydrique ,on remarque une augmentation plus élevée que celle des témoins privés de l'eau sauf pour la variété Sigus(fig 22 b).

Après l'application du deuxième niveau de stress(4h) , on observe chez les variétés Hedba3 et Sigus le même comportement vis-à-vis le traitement appliqué la ou on constate une diminution de l'accumulation de le MDA après traitement de 8h avec l'ABA et une augmentation de cette dernière après traitement de 16h avec l'ABA contrairement à la variété Hoggar qui marque une diminution après application d'ABA pendant 8h puis une augmentation après application de 16h.

Dans ce travail les variétés Hedba3 et Sigus présentent une accumulation d'MDA plus importante que celle de la variété Hoggar lors d'un stress sévère.

Selon Geret et al (2002) , lors d'un stress oxydatif, le niveau de MDA est proportionnel à l'étendue de la peroxydation lipidique, d'où son utilisation comme biomarqueur pour la mesure du stress oxydant. La MDA est généralement corrélée avec la réduction de la totalité des enzymes antioxydatives .

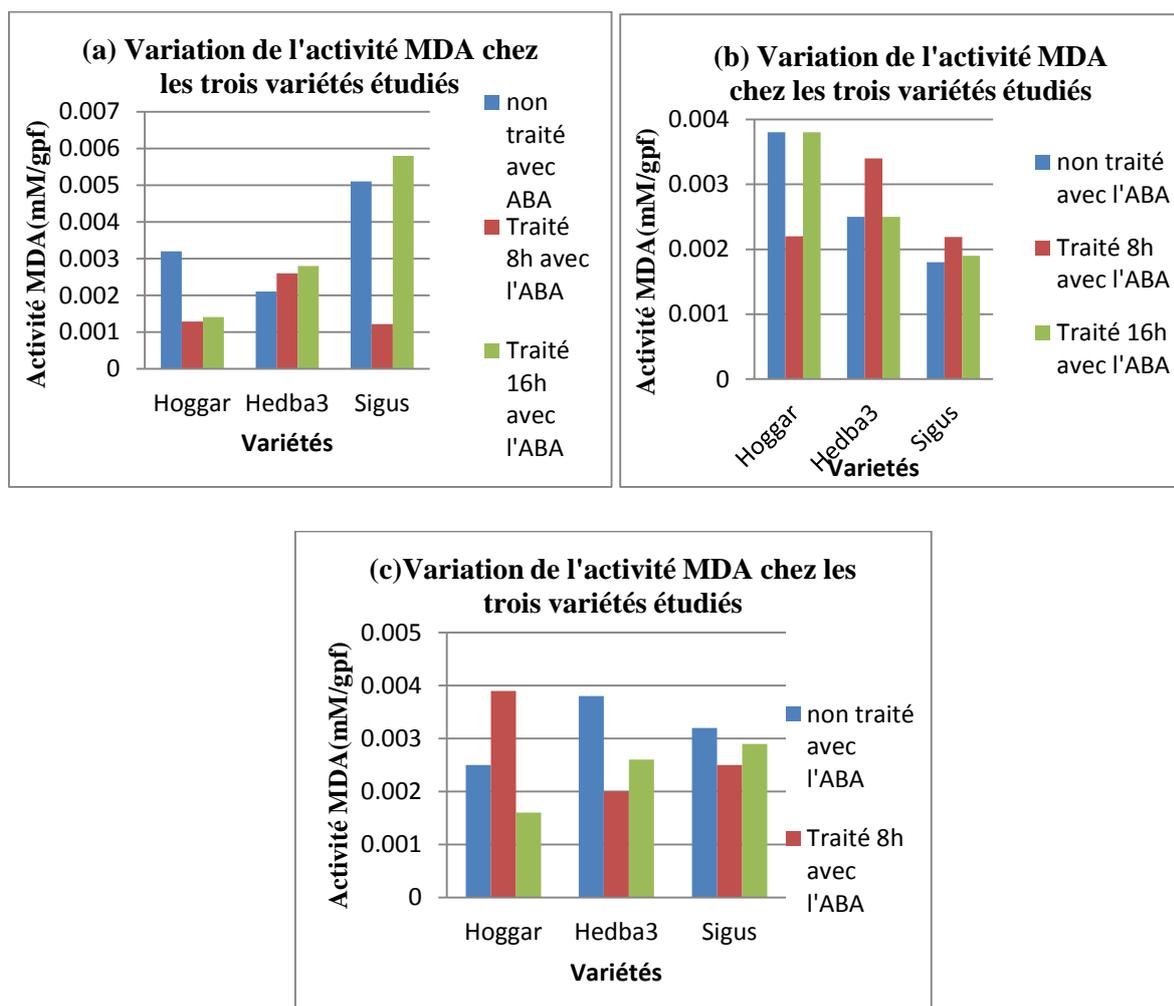


Figure 22 : Variation de l'activité MDA chez les trois génotypes étudiés (a : Témoins, b : soumis a un stress hydrique de 2h, c : soumis a un stress hydrique de 4h)

M. K. Daud et al (2015) constate que le niveau de MDA augmente chez le colza stressé. Le niveau du MDA invariable semble être une caractéristique des plantes tolérantes à la sécheresse et le degré des dégâts oxydatifs cellulaires des plantes exposées aux stress

abiotiques est fonction de la capacité des plantes à se protéger contre les agents oxydatifs (**A. Shalata et M. Tal.,2001 ; V. Mittova et al.,2001 ; M. Ashraf et P. J. C. Harris.,2004**)

Il a été admis pendant longtemps que l'MDA jouaient un rôle d'indicateur de stress abiotique par conséquent il peut être utilisé comme biomarqueur de stress oxydatif (**Ladhar-Chaabouni et al. 2007 ; Funes et al. 2005 ; Giguère et al. 2003**). Comparativement à la littérature les stress environnementales provoquent une accumulation de MDA qui permet de montrer une accumulation de MDA soit racinaire pour certains auteurs (**Dixit et al., 2001; Mishra et al., 2006**) soit foliaire (**Yannarelli et al., 2006; Liu et al., 2007**).

Conclusion

Conclusion

La tolérance au stress hydrique demeure la résultante de nombreux mécanismes adaptatifs fonctionnels durant la vie de la plante. La réponse des plantes au changement de stress varie selon l'intensité du stress et les caractéristiques de la plante même.

Les résultats de cette étude ont montré que le déficit hydrique a influencé sur les différents paramètres étudiés chez les trois variétés on note que la résistance stomatique et l'intégrité membranaire ont marqué une augmentation en fonction de l'intensité de stress et le traitement appliqué.

L'analyse de l'ABA synthétisé et accumulé dans les racines des plantes soumis à différents niveaux de stress a été effectuée par la technique de la chromatographie liquide à haute performance qui nous a permis de montrer que lors d'un stress oxydatif la concentration de cette phytohormone endogène augmente dans les racines pour aider à éliminer les ROS. On remarque aussi que l'apport exogène de l'acide abscissique a joué un rôle très important dans la réponse des plantes à la contrainte hydrique.

Ainsi, l'activité de la catalase a marqué une diminution lors des stress appliqués et ça montre peut-être que l'effet exogène de l'ABA a aidé la plante à catalyser la dismutation du peroxyde d'hydrogène, on excepte les variétés Hedba et Sigus au niveau des stress sévères ou on peut dire que le traitement 16h par l'ABA n'a pas été bénéfique. Par ailleurs l'activité peroxydase a connu une augmentation en fonction de l'intensité du stress ainsi que le traitement appliqué afin de réduire les substrats oxydés lors de ce stress.

L'augmentation de l'activité de la SOD montre une importante production de ROS observée chez les trois variétés, en effet l'activité de cette enzyme convertit l'anion superoxyde O_2^- en H_2O_2 .

La MDA est généralement corrélée avec la réduction de la totalité des enzymes antioxydatives. Dans cette étude la production de MDA est différente d'un niveau de stress à un autre et d'une variété à une autre.

En fin, on peut dire que les trois variétés utilisent les mêmes stratégies pour tolérer les différents stress abiotiques.

Références
bibliographi
ques

Références Bibliographiques

- **A. Muscolo, M. Sidari, et M. R. Panuccio.** 2003. "Tolerance of kikuyu grass to long term salt stress is associated with induction of antioxidant defences", *Plant growth regulation*, vol. 41, n o 1, pp. 57-62
- **Ackerson R.C., 1984** - Regulation of soybean embryogenesis by abscisic acid. *Journal of Experimental Botany*, 35,403-13.
- **Alem C., Labhilili M., Brahimi K., Jlibene M., Nasrallah N., and Filali-Maltouf A., 2002.** Adaptations hydrique et photosynthétique du blé dur et du blé tendre au stress salin. *C. R. Biologies*, Vol. 325 :1097-1109.
- **Araus J.L., G.A. Slafer, M.P. Reynolds, C. Royo.** 2002. Plant breeding and water relations in C3 cereals: what should we breed for? *Annals of Botany*, **89**: 925-940.
- **Arora A., Sairam R., Srivastava G.; 2002.** Oxidative stress and antioxidative system in plants. *Current Science*, **82**, 1227-1230.
- **Asada K.** 1994. In: Mullineaux P M Production and action of active oxygen species in
- **ATIA A; DEBEZ A; BARHOUMI Z; SMAOUI A et ABDELLY C., 2009** - ABA, GA3, and nitrate may control seed germination of *Crithmum maritimum* (Apiaceae) under
- **Atienza S ; Faccioli P ; Perrota G.; Dalfino G ; Zschiesche W; Humbek k.stanca A. M. and Cativelli L,** 2004- Influence du dessèchement du sol sur le fonctionnement hydrique et la croissance du Douglas. *Acta Oecologica .Oecologia Plantarum*, vol . 19, n°3,pp . 241-253.
- **Azevedo Neto A., Prisco J., Eneas-Filho J., De Abreu C., Gomes- Filho E., (2006)** Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and saltsensitive maize genotypes. *Environ Exp Bot* 56:87-94.
- **Bajji M., J. M Kinet and S. Lutts.** 2001. The use of the electrolyte leakage method for assessing cell membrane stability as a water stress tolerance test in durum wheat. *Plant Growth Reg.* 00 : 1 - 10.
- **Baldy C.** 1974. Contribution à l'étude fréquentielle des conditions climatiques et leurs influences sur la production des principales zones céréalières. *Document du projet céréales*, 170 pp.
- **Bédrani S.** 2001. Stratégie et politiques agricoles des pays du Maghreb central. *C.R. Agric.* **87**: 179-188.

- **Bédrani S.** 2001. Stratégie et politiques agricoles des pays du Maghreb central. *C.R. Agric.* **87**: 179-188
- **Benmahammed A., M. Kribaa, H. Bouzerzour, A. Djekoun.** 2008. Relationships between F2, F3 and F4-derived lines for above ground biomass and harvest index 107 of three barley (*Hordeum vulgare* L.) crosses in a Mediterranean-type environment. *Agricultural Journal*, **3**: 313-318.
- **Bhaduri A.M., Fulekar M.H.,** 2012. Antioxidant enzyme responses of plants to heavy
- **Bousba R., Ykhlef N. & Djekoun A.** 2009. Water use efficiency and flag leaf photosynthetic in response to water deficit of durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *World Journal of Agricultural Sciences* **5**: 609 -616 p.
- **Bouzerzour H., A. Benmahammed.** 2009. Variation in early growth, canopy temperature, translocation and yield of four durum wheat (*Triticum durum* Desf.) genotypes under semi-arid conditions. *Dirassat Journal of Agricultural Sciences, Jordan Univ.* **5**: 142-154.
- **Chance B, Machly A.C.** 1967. Methods of biochemical analysis. In: Glick D. editors.
- **Chebab S., Belli N., Leghouchi E., Lahouel M.** 2009 .Stress oxydatif induit par deux pesticides :l'endosulfan et le chlorpyriphos. *Environnement, Risques.*
- **Chebab S., Belli N., Leghouchi E., Lahouel M.** 2009 .Stress oxydatif induit par deux pesticides :l'endosulfan et le chlorpyriphos. *Environnement, Risques.*
- **Chenafi H., A. Aïdaoui, H. Bouzerzour, A. Saci.** 2006. Yield response of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivar Waha to deficit irrigation under semi-arid growth conditions. *Asian J Plant Sci.*, **5**: 854-860.
- **Chinnusamy V.; Zhu J. and Zhu J. K.,** 2006. Gene regulation during cold acclimation in plants. *Physiologia Plantarum* **126** (1): 52-61.
- **CIC.** 2007. International Grains Council. World Grains Statistics, p 13-17
- **Costa, V., Moradas-Ferreira, P.,** *Mol. Aspects. Med.*, **2001**, **22**, 217-240.
- **Curtin J.F., Donovan M., Cotter T.G.** :Regulation and measurement of oxydatif stress in apoptosis. *J.Immunom methods.*,2002, **265**, 49-70.
- **Davies , W.J . Zhang, J.** 1991. Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil. *Annu Rev Plant Phys Mol Bio.* **42** : 55-76.
- **Davies , W.J., Tardieu, F., Trejo, C.**1994. How do chemical signals work in plant that grow in drying soil? *Plant Physiol*; **104** : 309-14.
- **Debez A; Chaibi W et Bouzid S.,** **2001** - Effet du NaCl et de régulateurs de croissance sur la germination d'*Atriplex halimus* L. *Agriculture.* Vol. **10**, n°2, pp. 8-135.

- **Dixit, V., Pandey, V., Shyam, R. (2001)** Differential oxidative responses to cadmium in roots and leaves of pea (*Pisum sativum* L. Cv. Azad). *J. Exp. Bot.* 52; 1101-1109.
- **Djekoun A. & Planchon C.** 1991. Tolerance to leaf water potential in soybean genotypes. *Euphytica*. 55: 247 - 253 p.
- **Djekoun A. & Ykhlef N.** 1996. Déficit hydrique, effets stomatiques et non-stomatiques et activité photosynthétique chez quelques génotypes de blé Tétraploïdes. 3^{ème} Réunion du réseau SEWANA, de blé dur IAV HASSAN II (Maroc).
- **Doyotte, A., Cossu, C., Jacquin, M.-C. , Babut, M., Vasseur, P. ,** 1997. Antioxidant enzymes, glutathione and lipid peroxidation as relevant biomarkers of experimental or field exposure in the gills and the digestive gland of the freshwater bivalve *Unio tumidus*. *Aquat. Toxicol.* 39, 93-110.
- **Dreyer, E.** 1997. Photosynthesis and drought in forest trees. *Trees-Contributions to Modern Tree Physiology.* (Rennenberg, H., Eschrich, W. & Ziegler, H., eds.). *Backhuys Publishers, p215.
- **Droge W.,** Free radicals in the physiological control of cell function. *Cellular physiology. Rev.*, 2002, **82**, p47.
- **FAOSTAT.** 2007. Statistical database of the food and agriculture organisation of the United Nations.
- **Faridovich I.** Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annu. Rev. Biochem.*, 1995, 64:97-112.
- **Favier A.(2003)**Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. **l'actualité chimique. 108-110.**
- **Finkelstein R; Reeves W; Ariizumi T et Steber C.2008.** Molecular aspects of seed dormancy. *Ann. Rev. Plant Biol.* 59:387-415.
- **Fujita Y; Fujita M; Shinozaki K et Yamaguchi-Shinozaki K** , 2011 – ABA mediated transcriptional regulation in response to osmotic stress in plants. *Journal of Plant Research*, 1-17-17.
- **Funes V Alhamâ J, Navas JI, Iñiguez-Barea J, Peinado J. (2006)** Ecoroxicological effects of metal pollution in two mollusk species from the Spanish South Atlantic littoral *Environmental Pollution* 139:214-23.

- **Gama P.B., Inanaga S., Tanaka K., Nakazawa R.,** 2007. Physiological response of common bean (*Phaseolus Vulg. L.*) seedlings to salinity stress. *African Journal of Biotechnology*, vol.6 2: 79-88.
- **Gardès-Albert, M., Abedinzadeh, Z., Jore, D.,** *L'actualité chimique.*, **2003**, 269-270.
- **Geret, F., Jouan, A. , Turpin, V., Bebianno, M.J. , Cosson, R.P. ,** 2002. Influence of metal exposure on metallothionein synthesis and lipid peroxidation in two bivalve mollusks: the oyster (*Crassostrea gigas*) and the mussel (*Mytilus edulis*). *Aquat. Living Resour.* 15 , 61-66
- **Gregory B ;**2005 *Écophysiologie de semis de conifères ectomycorhizés en milieu salin et sodique* . Thèse doctorat (Ph.D.) en sciences forestières. Université Laval, Faculté de foresterie et géomatique.
- **Hadi M.** (2004) *La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques.* Thèse Présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Sciences de l'Université Louis Pasteur Domaine : Pharmacochimie. 155p.
- **Herbinger K., Tausz M., Wonisch A., Soja G., Sorger A. & Grill D.** 2002 . Complex interactive effects of drought and ozone stress on the antioxidant defence systems of two wheat cultivars. *Plant Physiol. Biochem.* 40: 691 - 696 p.
- **Hernandez J.A., Ferrer M.A., Jimenez A., Ros-Barcelo A., and Sevilla F.,** **2001.** Antioxidant systems and O₂/H₂O₂ production in the apoplast of *Pisum sativum* L. leaves: its relation with NaCl induced necrotic lesions in minor veins. *Plant Physiol.*, 127: 817-31.
- **Hervieu, B., R.Capone, S. Abis.** 2006. The challenge posed by the cereals sector in the Mediterranean. *Ciheim analytical note*, N°9, p14.
- **Hubbard K.E; Nishimura N; Hitomi K; Getzoff E.D et Schroeder J.I.,** **2010** - Early abscisic acid signal transduction mechanisms: newly discovered components and newly emerging questions. *Genes and Development.* 24, p1695
- **Hussain SS.** 2006. Molecular breeding for abiotic stress tolerance: drought perspective. *Proc Pak Acad Sci.*, **43**:189–210.
- **Ishida .H, Yoshimoto.K, Izumi.M, Reisen D, Yano.Y, Makino.A, Ohsumi.Y, Hanson M. R. and Mae T,**2008- Mobilization of Rubisco and Stroma-Localized fluorescent Proteins of Chloroplasts to the Vacuole by an ATG Gene-Dependent Autophagic Process. *Plant Physiol.* p148.
- **Jana S and Chaudhuri MA (1981)** Glycolate metabolism of three submerged aquatic angiosperm during aging. *Aquat Bot* 12 : 345-354.

- **Kameli A., DM. Losel**, 1996. Growth and sugar accumulation in durum wheat plants under water stress. *New Phytol.*, **132**: 57-62.
- **Khsravinejad, F., Heydari, R et Farboodnia, T.**, 2008. Antioxidant responses of two barley varieties to saline stress. *Pakistan Journal of Biological*. 11: 905-909
- **Kim, S.H et Hamada, T.** 2005. Rapid and reliable method of extracting DNA and RNA from sweetpension, Ipomoea batatas (L.) Lama . *Biotechnology Letters*. 27: 1841-1845.
- **Kim, S.Y., Lim, J.H., Park, M. R., Kim, Y.J., Park, T.I., Seo, Y.W., Choi, K.G et Yun, S.J.** 2005.Enhanced antioxidant enzymes are associated with reduced hydrogen peroxide in barley roots under saline stress. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*. 38: 218-224.
- **Kirkham M.B.**, 2006. Cadmium in plants on polluted soils: Effects of soil factors, hyperaccumulation, and amendments. *Geoderma* 137: 19-32.
- **Ladhar-Chaabouni R, Gargoun R, Hamza-Chaffai A (2007)** Effect of cadmium on some biomarkers in the clam *Ruditapes decussata*: metallothionein quantification by using two techniques. *Int J Environ Pollut* 10:593-601
- **Langridge P.; Paltridge N. and Fincher G.**, 2006- Fonctionnal genomics of abiotic stress tolerance in cereals. *Briefings in Fonctionnal genomics and Proteomics*.(4): 343-354.
- **Laumont P., J. Erroux.** 1961. Inventaire des blés durs rencontrés et cultivés en Algérie. *Mémoires de la Société d'Histoire Naturelle de l'Afrique du Nord*, p.5.
- **Laurent B., Ahmed B.** : La germination des semences en conditions sèches. *Science et changements planétaires/Sécheresse.*,1991 Volume2, Numéro 4 ,239-49.
- **Levitt J.** 1972. Responses of plants to environmental stress. New York, USA : Academic Press, p 697.
- **Liu K, Sun J, Song YG, Liu B, Xu YK, Zhang SX, Tian Q, Liu Y (2004)** Superoxide, hydrogen peroxide and hydroxyl radical in D1/D2/cytochrome b-559 Photosystem II reaction center complex. *Photosynthesis Research* 81: 41-47.
- **M.A.D.R.**2007.Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural. Annuaire statistiques, Série B.
- **Marouf A. et Reynaud J.**, 2007-La botanique de A à Z. 1662 définitions. Ed Dunod : P.286.
- **Mates J. M., Perez-Gomez C., Nunez de Castro I.** Antioxidant enzymes and human diseases. *ClinBiochem*. 1999; 32: p596.

- **Meinzer , F.C., Grantz, D.A.** 1990. Stomatal and hydraulic conductance in growing sugarcane: stomatal adjustment to water transport capacity. *Plant, Cell Environ.* 13 :383-388.
- **Mekhlouf A., F. Dehbi, H. Bouzerzour, A. Hannachi, A. Benmahammed, A. Adjabi.** 2006. Relationships between cold tolerance, grain yield performances and stability of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) genotypes grown at high elevation area of Eastern Algeria. *Asian Journal of Plant Sciences*, **5**: 700- 708.
- **Minolta Co. Ltd .**1989. Chlorophyll meter SPAD-502 Instruction manual. metal stress. *Environmental Science and Biotechnology* 11: 55–69.
- **Mishra, S., Srivastava, S., Tripathi, R. D., Govindarajan, R., Kuriakose, S. V., Prasad, M. N. V. (2006)** Phytochelatin synthesis and response of antioxidants during cadmium stress in *Bacopa monnieri* L.. *Plant Physiol. Bioch.* 44; 25-37.
- **Mittler R., Vanderauwera S., Gollery M., Van Breusegem F. :**Reactive oxygen gene network of plants .*Trends plant Sci .*, 2004,9,p490.
- **Mittler R., Vanderauwera S., Gollery M., Van Breusegem F.,**Reactive oxygen gene network of plants .*Trends plant Sci.,2004,9*, 490-497.
- **N. P. Rout et B. P. Shaw.** 2001. “Salt tolerance in aquatic macrophytes: possible involvement of the antioxidative enzymes”, *Plant Science*, vol. 160, n o 3, pp. 415-423.
- **Nambara E; Okamoto M; Tatematsu K; Yano R; Seo.M et Kamiya Y., 2010 .**Abscisic acid and the control of seed dormancy and germination.*See d Sci R s.* 20 (02):55–67 New York: Interscience Publishers Inc.
- **Novelli G. P.(1997)** Role of free radicals in septic shock. *J Physiol Pharmacol.* 48, p517.
- **Packer L., Tritschler H. J., Wessel K.** Neuroprotection by the metabolic antioxidant alpha-lipoic acid. *Free Radic Biol Med.* 1997; 22: 359-365.
- **Parent C., Capelli N. and Dat J., 2008.** Formes réactives de l’oxygène, stress et mort cellulaire chez les plantes. *C. R. Biologies* 331 (2008) 255-261.
- **Passioura, J.** 2004. Increasing crop productivity when water is scarce: from breeding to field management. *In proceedings of the 4th International Crop Science Congress"New directions for a diverse planet" Brisbane, Australia.* 12 pages, www.regional.org-au/au/cs.
- salinity on seed germination of *Ceratoides lanata* ; *Can. J. Bot.* 82: 37–40.

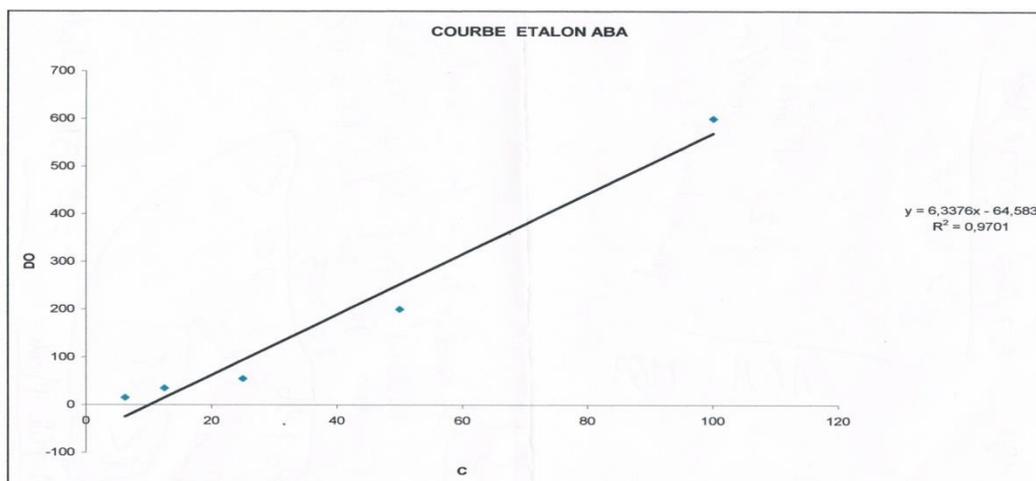
- **Paul M.H., Planchton C. & Ecochard R.** 1979. Etude des relations entre le développement foliaire, le cycle de développement et la productivité chez le soja. *Améliorations des plantes*. 29 : p479
- **Pincemail J., Meurisse M., Limet R., Defraigne J.O., 1999.** L'évaluation du stress oxydatif photosynthétique. Foyer C.H., editor. Causes of Photooxidative Stress and Amelioration of Defense Systems in Plants. USA : CRC Press Ed., 77-104.
- **Powers S. K., Lennon S. L.** Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. *Proc Nutr Soc.* 1999; 58: 1025-1030.
- **Rahnama H., Ebrahimzadeh H., 2005.** The effect of NaCl on antioxidant enzyme activities in potato seedling. *Biol Plant* 49(1):93-97.
- **Rajjou L; Duval M; Gallardo K; Catusse J; Bally J; Job C et Job D., 2012** Seed germination and vigor. *Annu. Rev. Plant Biol.* 63, 507-533
- **Reddy AR., Chaitanya KV. and Vivekanandan M., 2004.** Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *J Plant Physiol* 161:1189-1202.
- **Rhodes D., Nadolska-Orczyk A., Rich P.J., 2002.** Salinity, osmolytes and compatible solutes. In *Salinity: Environment Plants Molecules*, ed. A L. auchli, U L. uttge, pp. 181-204. Dordrecht, Netherlands: Kluwer.
- **Richards, R.A., Rebtzke, G.J., A.G. Condon. A.F. Van Herwaardlen.** 2002. Breeding for increasing the efficiency of water use and crop yield in temperate cereals. *Crop Sci.*, 41: 111-120
- **Salah , H.B.H., Tardieu, F.** 1997. Control of leaf expansion rate of droughted maize plants under fluctuating evaporative demand. A superposition of hydraulic and chemical messages. *Plant Physiol.* 114: p893
- **Schwartz. C., 2007-**Salinisation des sols : processus, causes, effets et gestions des sols salés .Diapositif. saline conditions. *C. R. Biologies*, 332: 704–710
- **Seo M; Nambara E; Choi G et Yamaguchi S., 2009** - Interaction of light and hormone signals in germinating seeds. *Plant Mol. Biol.* 69: 463–472
- **Shepherd T., DW. Griffiths.** 2006. The effects of stress on plant cuticular waxes. *New Phytol.*, **171**: 469–474
- **Smirnoff N.** (1998) Plant resistance to environmental stress. *Current Opinion in Biotechnology* 9(2), 214-215.
- **Sturtz L. A., Diekert K., Jensen L. T., Lill R., Culotta V. C.** A fraction of yeast Cu,Zn-superoxide dismutase and its metallochaperone, CCS, localize to the

intermembrane space of mitochondria. A physiological role for SOD1 in guarding against mitochondrial oxidative damage. *J Biol Chem.* 2001;276: 38084-38089.

- **Sun Haolin, Laura, Biedermann Tami C.** ,2007 ;Bond. Color of brown carbon: A model for ultraviolet and visible light absorption by organic carbon aerosol. *Geophysical research letters*, 5:p34.
- **Tardieu F.** 2005. Plant tolerance to water deficit: Physical limits and possibilities for progress. *Geo Sci.*, 337: 57 -67
- **V. Arbona, V. Flors, J. Jacas, P. García-Agustín, et A. Gómez-Cadenas.** 2003. “Enzymatic and Non-enzymatic Antioxidant Responses of Carrizo citrange, a Salt-Sensitive Citrus Rootstock, to Different Levels of Salinity”, *Plant Cell Physiol*, vol. 44, n °4, pp. 388-394.
- **Vansant G.** (2004) Radicaux libres et antioxydants : principes de base. Symposium «Antioxydants et alimentation ». Institut Danone.
- **Verslues P.; Agarwal M.; Katiyaragarwal S. and Zhu J.,** 2006 Methods and concepts in quantifying resistance to drought salt and freezing abiotic stresses that affect plant water status. *The plant journal* 45: 523-530.
- **Wang W.; Vinocur B. and Altman A.,** 2003- Plant response to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta* 218.p14.
- **Wartinger , A., Heilmeier, H., Hartung, W., Schultze E.D.** 1990. Daily and seasonal courses of leaf conductance and abscisic acid in the xylem sap of almond trees (*Prunus dulcis* M.) under desert conditions. *New Phytol.* 116 : 581-587.
- **Weitbrecht K; Muller K et Leubner-Metzger G.,** 2011 - First off the mark: early seed germination. *J Exp Botany* 62: 3289–3309.
- **Witcombe JR., PA. Hollington, CJ. Howarth, S. Reader, KA.** Steel. 2009. Breeding for abiotic stresses for sustainable agriculture. *Phil. Trans. R. Soc. B.*, **363**: 703-716.
- **Yannarelli, G. G., Fernández-Alvarez, A. J., Santa-Cruz, D. M, Tomaro, M. L.** (2006) Glutathione reductase activity and isoforms in leaves and roots of wheat plants subjected to cadmium stress. *Phytochemistry*
- **Zhu J.K.,** 2001-Plant salt tolerance. *Trends in Plant Sci.* 6: 66-71.

Annexes

Annexe 1



Annexes 2

Tampon phosphate de potassium 0.067 M, au PH=7,8

Dans un ballon de jaugé de 500 ml on dissout 0,2917 g KH_2PO_4 si 5,4616 g K_2HPO_4 , dans 400 ml eau bidistillée. On corrige le PH à 7,8 avec de la solution KOH 1N, soit avec de la solution d'acide phosphorique 1 :3. On complète à 500 ml avec de l'eau bidistillée.

Annexe 3

Solution tampon Tris-Hcl 0,1M au PH=7,8

Contenant 1mMole dithiothéréitol (DTT) et 1 mMole acide éthylène diamine tétraacétique (EDTA).

Annexe 4

Solution EDTA disodique 0,1 M, au PH=7,8

Dans un ballon de jaugé de 100 ml on dissout 3,7223 g éthylène diamine tétra acétate de sodium ($\text{EDTA-Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), dans 75 ml eau bidistillée. On corrige le PH à 7,8 avec solution NaOH 1N, et on complète à 100 ml avec de l'eau bi distillé

Annexe 5

Solution de nitroBlue tetrazolium(NBT) 1,5 mM

on dissout 12,26 mg nitroBlue tetrazolium dans 10 ml d'eau bidisillée. On garde au réfrigérateur.

Nom : BENGHERSALLAH . Prénom : Nour El Houda.

Mémoire pour l'obtention du diplôme de :

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Master Biologie et Génomique Végétale.

Option : Biologie et Génomique Végétale.

Thème : Effet du stress oxydatif sur différentes variétés de blé dur

(Triticum durum Desf) et sur leurs systèmes défensifs

Résumé :

Résumé

Les cultures céréalières sont importantes, se concentrent principalement dans les zones arides et semi arides là où les conditions climatiques limitent sérieusement le potentiel de production. En raison du caractère imprévisible de la contrainte hydrique, la tolérance s'avère la stratégie la plus efficace dans les situations de stress sévère et prolongé. Lors de cette tolérance on assiste à des modifications de structure ou de fonctions qui augmentent la probabilité de survie et de production des plantes lors de ces conditions.

Ce travail a pour objectif d'évaluer l'effet du stress hydrique et le traitement des graines par l'ABA sur des paramètres physiologiques et biochimiques tels que la résistance stomatique, l'intégrité membranaire, l'activité peroxydase, catalase, MDA, SOD et ABA. Et d'examiner les différences en ces paramètres entre trois variétés de blé dur Hoggar, Hedba3 et Sigus.

L'analyse des résultats a montré que, lors de privation de l'eau, le comportement des plantes se manifeste différemment d'un niveau de stress à un autre et d'une variété à une autre. En général, les conditions de contrainte hydrique, ont entraîné chez les trois variétés étudiées une grande variabilité de réponse face au stress hydrique qui a causé une production des ROS chez les trois variétés. Le dosage de l'ABA par HPLC a permis de quantifier le taux de cette dernière qui a un rôle défensif très important contre le stress oxydatif. Ainsi que l'apport exogène de l'ABA qui a été efficace dans l'induction de la tolérance à la sécheresse.

Mots clés : Blé dur, stress hydrique, stress oxydatif, Catalase, Peroxydase, MDA, SOD, ABA, HPLC

Jury d'évaluation :

Présidente du jury : YKHLEF Nadia (Prof - UFM Constantine).

Rapporteur : BOUSBA Ratiba (MC - UFM Constantine).

Examineurs : Mouellef Adra (MAT - UFM Constantine).

Année universitaire : 2014/2015

