



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 Physiologie Végétale

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : biologie végétale

Spécialité : Métabolisme secondaire et molécules bioactives

Thème:

Dosage des anthocyanes et de la glycine bétaine en conditions de stress hydrique et étude des mécanismes de tolérances chez dix variétés du blé dur (*triticum durum* Desf.)

Présenté par :

-Kara safia

-Zerguine manel

Jury d'évaluation :

- Président du jury :.....MCB . Chaib Ghania
- Rapporteur :.....MAA . Bouchareb Radia
- Examineurs :.....MAA. Oubrahim

Année universitaire 2015 - 2016

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

REMERCIEMENTS.

Nous Remercions Dieu de nous avoir donné la volonté et le courage qui nous ont permis de réaliser ce travail.

*On remercie madame le Professeur **Bouchareb Radia** de l'université Constantine 1 d'avoir bien*

voulu me proposer un sujet pour notre mémoire de fin d'études et d'avoir eu la gentillesse de nous guider tout au long de ce travail. On espère que ce mémoire sera à la hauteur de ses attentes et pourra compenser au moins une partie des efforts et du temps qu'elle a bien voulu me consacrer.

*On remercie également Madame le Docteur **Chaïb Ghania** qui nous fait l'honneur de présider le jury de soutenance de ce mémoire.*

*Nos remerciements vont également à Mademoiselle **Oubrahim** qui a bien voulu accepter d'examiner ce travail ainsi que son aide.*

DEDICACE :

*Je dédie ce travail en premier lieu à mes parents «Naser ,
Soria »*

*qui me sont très chers en témoignage à leur soutien pendant
toute ma vie car aucun mot ne pourra exprimer ma haute
gratitude et profonde affection.*

A grande mère « khamssa « et grande père « Saide »

A mon marie « Milat Amar »

*A mes frères « Selma – Soumia - Nadjla – Mohamed –
Seif » et a toute la famille Zerguine et Souiri .*

A mes tantes « Moumi - Laila – Soade – Nawel – Fatiha «

*A tout mes amie surtout : Kara Safia -Imami loubna –
Touirat aicha – Ben dokhane Soria .*

*Et a toutes personnes qui ont contribué à la réalisation de ce
travail.*

Zerguine Manel

À MES CHERS PARENTS

*Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que
vous me portez depuis mon enfance .*

*j'espère que votre bénédiction m'accompagne
toujours.*

À MES CHERS FRÈRES:

HAMAD et AHMED

À MES ADORABLES SŒURS:

RANIA , SARA et son marie LYESS, les petits
OUSSAMA et ANES.

À MES CHERS amis:

MANEL et SOURIA

KARA SAFIA

MY HOUSE ON WEB
<http://www.myhouseonweb.eu/>

Résumé

Le blé dur est considéré comme une culture stratégique en Algérie. Toutefois, la croissance de cette culture et l'amélioration de son rendement sont limitées par le manque d'eau et la température irrégulière.

Notre étude s'intègre dans le cadre d'une recherche multidisciplinaire qui vise le comportement de dix géotypes de blé dur à été étudié sous serre: Vitron, GTA, Waha, Cirta, Bidi, Wahbi, OTB4, Ter1-3, F4, Bousslem, sous l'effet du stress hydrique.

Dans la phase montaison on a effectué plusieurs mesures: le dosage des anthocyanes et le dosage de la glycine bêtaïne, le taux de chlorophylle, en utilisant le spectrophotomètre, et l'intégrité membranaire par le conductivimètre.

Nos résultats montrent que la tolérance du blé dur aux contraintes hydriques en fait plusieurs mécanismes de protection déployés par les plantes proportionnelles à la gravité du stress; et cela est par les variétés. En outre, il s'est résulté que les dix variétés suivent les mêmes stratégies de résistance aux différentes contraintes abiotiques et les variétés les plus tolérantes **B17, Cirta et F4/3**.

Mots clés: blé dur, stress hydrique, les anthocyanes, la glycine bêtaïne, chlorophylle, l'intégrité membranaire.

Abstract

Durum wheat is considered as a strategic culture in Algeria, however. The growth of this culture and the improvement of its performance are limited by the stress water and irregular temperature.

Our study forms part of multidisciplinary research aimed at the behavior of ten genotypes of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) under stress water.

This genotypes : Vitron, GTA, Waha, Cirta, Bidi, Wahbi, OTB4, Ter1-3, F4, Bousselem, were growth hydroponically with water stress, is applied after the phase of montaison to perform a multitude measurement: the content of anthocyanin, chlorophyll, étain, was evaluated by spectrophotometric analysis, stomatal resistance membrane stability. The results show that the tolerance of durum wheat to water stresses induce several protection mechanisms deployed by proportional severity of the stress.

Furthermore, it results that the four varieties follow the same resistance strategies or avoidance in front of different abiotic stresses,

Key words: Durum wheat , water stress , anthocyanins , glycine bétain, chlorophyll, stomatal resistance.

الملخص :

يعتبر القمح الصلب زراعة استراتيجية في الجزائر . و مع ذلك فان نموها و تحسين ادائها يبقى محدود بسبب نقص المياه و درجات الحرارة الغير منتظمة .

تشكل دراستنا جزءا من البحوث متعددة التخصصات التي تستهدف سلوك عشرة انماط وراثية مختلفة الأصل من

القمح الصلب تحت تأثير الاجهاد المائي . (1)WAHA , (2)- WAHBI , (3)CIRTA , (4)BOUSSELEM , (5)VITRON , (6) OTB4 , (7)TERL-2 , (8)GRADUR , (9) BIDI17 , (10)F4 .

تمت زراعتهم في البيت الزجاجي و طبق عليهم الاجهاد المائي في مرحلة التطاول ،وقمنا بأداء مجموعة من القياسات البيوكيميائية و المتمثلة في الانتوسيانين، الكلوروفيل، النفاذية الغشائية ، البيتاين و من خلال النتائج المتحصل عليها تبين أن الأصناف B17 ، F4/3،Cirta ، أكثر مقاومة مقارنة بين الأصناف التي تجاوزت بطرق متفاوتة فيما بينها،و قد ثمنت هذه التجارب بدراسة إحصائية لمقارنة الأصناف .

كلمات البحث :

القمح القاسي، الاجهاد المائي ، الانتوسيانين، البيتاين، الكلوروفيل، سلامة الغشاء .

LISTE DE ABRÉVIATION

OAIC : l'Office algérien interprofessionnel des céréales

ITGC : Institut Technique des Grandes Cultures

SOD : la superoxyde dismutase

POX : les peroxydases

Uv : Ultraviolet

IUPAC: Union internationale de chimie pure et appliquée

TMG : la triméthylglycine

GB : la glycine bêtaïne

DMSP : Defense Meteorological Satellite Program

OCM : Organisations communes de marché

BADH : la bêtaïne aldéhyde déshydrogénase

CDH : la choline déshydrogénase

CodA : choline oxidaseA

Chlo : La chlorophylle

LISTES DES FIGURES

Fig 1 : les principaux acteurs du marchè mondial du blè en 2006-2007.....	04
Fig 2 : l'évolution des prix nationaux et internationaux entre 1990/2008 (COMTRADE, 2008).....	05
Fig. 3 Quelques structures d'anthocyanosides.....	12
Fig.4 Équilibre des anthocyanosides en solution aqueuse, de pH1 à pH 6-7.....	13
Fig 05 :Voies de biosynthèse des anthocyanosides.....	16
Fig 6 :chloroplaste d'une plante supérieure.....	17
Fig7 :Structure des chlorophylles <u>a</u> , <u>b</u>	18
Fig8 : Synthèse de dodécylbétaine.....	24
Fig9 :la formation du chlorure de bétainyle à l'aide des réactifs chlorés les plus utilisés, le chlorure de thionyle et le chlorure d'oxalyle.....	25
Fig10 : la formation de chloroacétate d'alkyle à l'aide de chlorure de chloroacétyle.....	25
Fig11 : synthétisé le bétainate d'amidon.....	26
Fig12 : Les dix variétés de blé dur (Triticum durum Desf).....	27
Fig13 : Dosage des anthocyanes.....	28
Fig14 : dosage de la glycine bétaine.....	28
Fig15 : Dsage de l'intégrité membranaire.....	29
Fig16 : dosage de la chlorophylle A et B.....	30
Fig17 : la teneur des anthocyanes chez les dix varieties de blé dur.....	32
Fig18 : La teneur de la glycine bétaine de dix génotypes du blé dur.....	33
Fig19 :La tenure de l'intégrité membranaire des dix génotypes de blé dur.....	34
Fig20 : La tenure de chlorophylle de dix variétés du blé dur.....	35

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Évolution de la production et de la collecte de blés entre 2000/2008 (L'ITGC, 2009).....	05
Tableau 2 présente les structures de quelques bétaines.....	19
Tableau 3 : quelques dérivés de la glycine bétaine.....	23
Tableau 4 : Les variétés étudiées et leurs origine.....	26
Tableau 5 : Les résultats des concentrations différentes étudiées avec des statistiques descriptives.....	31

SOMMAIRE

Introduction	1
<i>chapitre I: revue bibliographique</i>	
I.Importance et production du blé dans le monde et en Algérie	3
I.1.Dans le monde	3
I.2.En Algérie.	4
II. Notion de stress.....	6
1. Le stress thermique	6
1.1. Les hautes températures.....	6
1.2. Les basses températures.....	7
2. Le stress hydrique.....	7
2.1 -Mécanismes d'adaptation des plantes au stress hydrique.....	8
A-Adaptation phénologique.....	8
B-Adaptation morphologique	8
C-Adaptation physiologique	9
D-Adaptation biochimique :	9
III- Métabolisme secondaire	10
1-Les polyphénols	10
2-Flavonoïde.....	10
3. Anthocyane.....	11
3.1. Structure	11
3.2. Facteurs influençant la couleur	13
A-Influence du pH.....	13
B-Influence des copigments.....	14
3.3. Occurrence.....	14
3.4. le rôle des anthocyanes	14
3.5. Activités biologiques.....	15
3.5.1. Activité antioxydante.....	15
3.6. Biosynthèse	15
IV. Chloroplaste	16
1-Chlorophylle.....	17
1.1.Différentes formes de chlorophylle	17
1.2. Structure chimique et biosynthèse	18
V- Glycine bétaine	19

V.1.Fonctions métaboliques.....	20
V.2. Le rôle , le mécanisme et les nouveaux concepts.....	20
V.3. L'utilisation de gènes de biosynthèse de Glycine betaine dans des plantes transgéniques	21
V.4.Méthodes de synthèse par voie chimique des dérivés tensioactifs de la glycine bétaine :	24
V.4.1. Synthèse des alkylbétaines :	24
V.4.2. Synthèse des alkylbétainates.....	24
A. Activation des acides organiques.....	25
B. Activation des alcools	25
V.4.3. Synthèse de bétainate d'amidon	26
V.5.Glycine betaine t la protection des organes de la reproduction au cours du stress abiotique	26

chapitre II : Matériel et méthode

1. Matériel végétal	26
2. Conduite de l'essai.....	26
3- Paramètres étudiés:	27
3.1. Paramètres biochimiques:	27
3.1.1. Les anthocyanes: (Eryilmaz, 2006)	27
3.1.2. La glycine bétaine: (Grieve et Grattan, 1983).....	28
3.2. Paramètre physiologique :.....	29
3.2.1. L'intégrité membranaire:	29
3.2.2. Le chlorophylle:	29
4.Traitement et analyse statistique des données :	30

CHAPITRE III : RESULTATS ET DUSCUSION

1.Variation des paramètres biochimiques	31
1.1. Les anthocyanes:	31
1.2.La bétaine:	33
2.les paramètres physiologiques:.....	34
1.2 L'intégrité membranaire:	34
2.2. Taux de chlorophylle:	35
3- Diccussion et préspective	36
Conclusion	
Référence	
Annexes	

Introduction

Les céréales sont une source majeure d'alimentation pour un grand nombre de l'humanité. La croissance de cette culture est l'amélioration et son rendement qui est limité par le changement climatique.

Les stress environnementaux, notamment le stress hydrique, limitent sérieusement la croissance des plantes ainsi que la productivité végétale (Wang et al. 2003). Le déficit hydrique constitue un important facteur limitant pour la production des cultures céréalières, puisque 60% de la superficie réservée aux céréales se situe dans les zones arides et semi-arides (El mourid et al.,1996) qui se caractérisent par une forte irrégularité des précipitations et de fortes températures sur une grande partie de l'année (Boutfirass et al., 1994).

Le stress hydrique a été défini comme une baisse ou un excès de la disponibilité d'eau, traduisant par une réduction de la croissance de la plante et de sa reproduction par rapport au potentiel de génotype, la contrainte hydrique est le facteur ou l'ensemble des facteurs ayant pour conséquence le stress. La résistance globale d'une plante au stress hydrique apparaît comme le résultat de nombreuses modifications morphologiques, physiologiques, biochimiques et moléculaires qui interagissent pour permettre le maintien de la croissance, du développement et de la production (Hsissou,1994).

L'accumulation des composés solubles dans l'eau de faible masse moléculaire connus sous le nom « soluté compatible » ou « osmolytes » est la stratégie commune adaptée par les nombreux organismes pour lutter contre les stress environnementaux (Biol, 2002).

La glycine bêtaïne est un osmolyte organique qui accumule dans une variété d'espèces de plantes en réponse au stress hydrique. L'accumulation de glycine bêtaïne transgénique comme exprimant le gène régulateur de tension, *Osmyb4*, est liée à l'amélioration de la sécheresse et de la tolérance au froid (Alcazar et al ; 2010).

La chlorophylle est un pigment végétal responsable de la coloration verte des plantes. Ce pigment, que l'on retrouve dans les cellules des végétaux, est utilisé avec d'autres pigments par les plantes pour effectuer la photosynthèse.

Les anthocyanes sont des pigments qui absorbent la lumière intense et les convertissent en chaleur ce qui facilite la croissance des végétaux (Lois, 1994).

On trouve également les anthocyanes dans les feuilles et graines. En automne, les couleurs caractéristiques des feuilles des arbres sont dues aux anthocyanes et aux carotènes qui ne sont plus masqués par la chlorophylle (Bassas et *al.*, 2007).

L'étude physiologique montre que le stress appliqué a provoqué une réduction de la teneur relative en eau et de la stabilité membranaire.

Le but de ce travail consiste à étudier la concentration des anthocyanes et de la glycine bêtaïne ainsi que le taux de chlorophylle et l'intégrité membranaire dans dix variétés de blé dur.

Cette mémoire contient 3 parties :

- Revue bibliographique.
- Matériel et méthodes.
- Résultats et discussion.

CHAPITRE I

REVUE

BIBLIOGRAPHIQUE

I.Importance et production du blé dans le monde et en Algérie

I.1.Dans le monde :

La production de blé est présente sur les cinq continents, il est quasiment absent dans les zones équatoriales et tropicales, les grandes bassins de productions se trouvent en Europe du sud-est de l'Angleterre jusqu'à l'Ukraine, au nord de l'Inde, dans les plaines du nord de Chine, les plaines d'Amérique du Nord, l'extrême sud de l'Afrique et l'Australie (Magdelaine et al., 1993).

En botanique le blé dur est une des céréales la plus employée dans l'alimentation de l'homme et des animaux (Cheftel et al., 1992). Les grains de blé dur donnent de la semoule pendant la maturation, cette semoule est valorisée dans la fabrication des pâtes alimentaires (Jeant et al., 2006). De plus en Afrique du nord, on utilise aussi cette céréale pour la production de couscous et des pains traditionnels (Feillet, 2000).

Dans le monde, l'union européenne (principalement l'Italie, l'Espagne et la Grèce) est le plus grand producteur de blé dur, avec une récolte annuelle moyenne de huit millions de tonnes métriques. Le Canada arrive au deuxième rang avec 4.6 millions de tonnes métriques par année, suivi de la Turquie et des États-Unis, avec 4 millions de tonnes métriques. La campagne 2005-2006 est caractérisée par une consommation de 616 millions de tonnes alors que la production est estimée à 600 millions de tonnes, il en résulte une nouvelle baisse des stocks mondiaux qui passent à 136 millions de tonnes. Au cours des 10 dernières années la production mondiale de céréales (hors riz) a été inférieure à la demande à 8 reprises. La production de blé augmenterait de 4.8% pour s'établir autour de 626 millions de tonnes pour l'année 2007, pour 592 millions de tonnes en 2006 (Mouellef., 2010).

Tableau 1 : Évolution de la production et de la collecte de blés entre 2000/2008

(L'ITGC, 2009)

Période	Blé dur		
	Production(1)	Collecte(2)	(2)/(1)%
2000	486,3	252,9	52
2001	1238,9	497,5	40,16
2002	951	225,9	23,76
2003	1802,3	671,9	37,28
2004	2001,7	685,2	34,23
2005	1568,7	320,1	20,4
2006	1772,8	401,1	22,63
2007	1806	350,6	19,42
2008	935	365,9	39,14
Moyenne	710,7	309,4	45,57

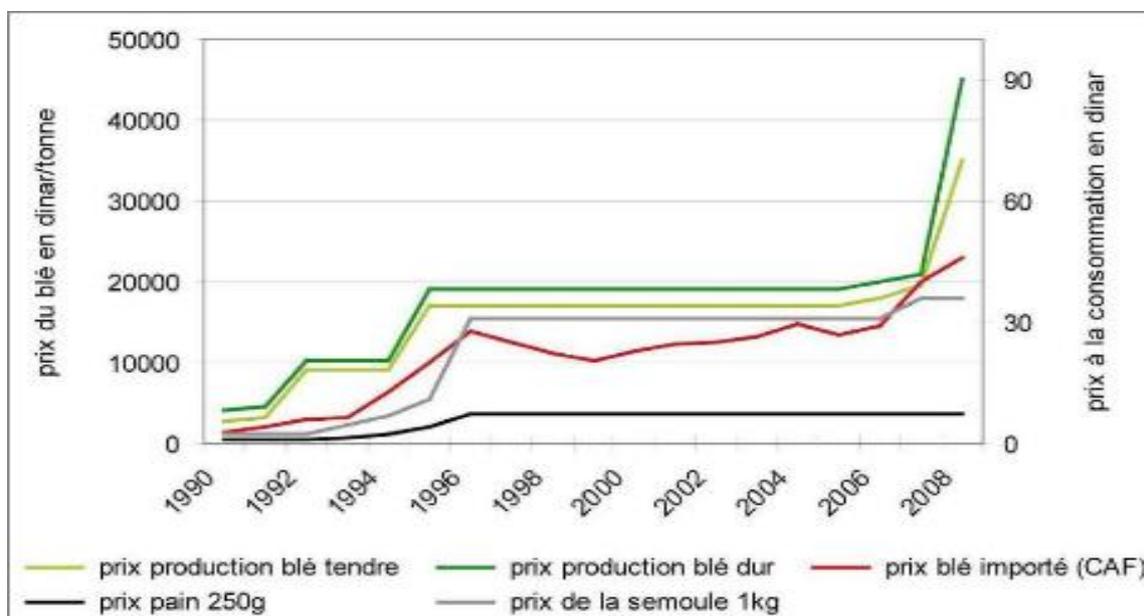


Fig 2: l'évolution des prix nationaux et internationaux entre 1990/2008

(COMTRADE, 2008)

II. Notion de stress

Selon les définitions, le stress chez les plantes apparaît avec des significations différentes en biologie, qui convergent principalement en attribuant le stress à n'importe quel facteur environnemental défavorable pour une plante (Levitt, 1982). (Tsimilli-Michael et al., 1998) considèrent que le stress a une signification relative, avec un contrôle comme état de référence, ils considèrent le stress comme une déviation du contrôle à une contrainte. Selon (Jones et al., 1989), un stress désigne à la fois l'action d'un agent agresseur et les réactions qu'il entraîne dans l'organisme agressé, une force qui tend à inhiber les systèmes normaux. D'autre part, les stress environnementaux nés de la fluctuation des facteurs abiotiques (sécheresse, salinité, température) affectent les conditions de croissance, le développement et le rendement des plantes (Madhava Rao *et al.*, 2006).

1. Le stress thermique

1.1. Les hautes températures

Dans les zones arides et semi-arides d'altitude, le stress thermique peut intervenir même en début du cycle. (Karou *et al.*, 1998) observent une forte réduction du nombre de plantes levées par unité de surface, suite aux effets des hautes températures automnales. Ces effets s'amenuisent à mesure que le semis est fait tardivement (Fischer, 1985).

L'effet des hautes températures au semis se manifeste par une réduction de la longueur du coléoptile (Hazmoune, 2000). (Rawson, 1988) réussit à montrer que l'effet pénalisant de l'élévation de la température est surtout dû au fait que la plante n'arrive pas à absorber les éléments nutritifs et l'eau et les utiliser au rythme imposé par le stress thermique. (Hauchinal *et al.*, 1993) remarquent une réduction du rendement des semis tardifs, liée à une diminution du nombre d'épi et du poids moyen du grain, causée par les effets des hautes températures. Ils notent aussi que l'effet pénalisant du stress thermique se matérialise par une accélération du développement et une réduction des dimensions des organes constitutifs de la plante. La résultante est un effet négatif sur la productivité globale de la plante.

(Wardlaw *et al.*, 1989) montrent que la baisse du rendement due au stress terminal, est corrélée positivement à la réduction du poids moyen du grain et à la variation du nombre de grain/m². L'élévation de la température, tard au cours du cycle de développement de la plante, et particulièrement après anthèse, est une contrainte à l'augmentation des rendements

en zone semi-aride (Bouzerzour et Benmahammed, 1994). L'effet des hautes températures se manifeste par une accélération de la sénescence foliaire et l'arrêt de la croissance du grain (Dakheel *et al.*, 1993). (Wardlaw *et al.*, 1989) montrent que la température optimale pour le développement et le remplissage du grain, varie de 12 à 15 C° pour de nombreux génotypes de céréale à paille. Ils observent une diminution de 3 à 5 % du poids du grain pour chaque degré d'augmentation de la température à partir de la base des 12 à 15 C°. Dans l'écart des moyennes de températures de 12 à 15 C°, une réduction de la durée de remplissage est compensée par une augmentation du taux de remplissage, avec pour effet peu de variation du poids moyen du grain (Wardlaw *et al.*, 1989).

1.2. Les basses températures

L'altitude et un climat de type méditerranéen imposent un hiver très froid et pluvieux, le froid hivernal limite la croissance au moment où l'eau est disponible et allonge le cycle de la plante pour l'exposer à la sécheresse du début de l'été (Chenaffi *et al.*, 2006). Les dégâts de gel tardif sont très fréquents sur céréales, rendant l'adoption des variétés précoces trop risquée (Bouzerzour et Benmahammed, 1994). L'adoption de la stratégie de l'esquive comme moyen pour échapper au stress thermique de fin de cycle, est peu opérante dans le cas où les génotypes précoces sélectionnés ne sont pas génétiquement résistants au froid (Mekhlouf *et al.*, 2006).

2. Le stress hydrique

Le stress hydrique est l'un des stress environnementaux les plus importants, affectant la productivité agricole autour du monde (Boyer, 1982). Il occupe et continuera d'occuper une très grande place dans les chroniques agro-économiques. C'est un problème sérieux dans beaucoup d'environnements arides et semi-arides, où les précipitations changent d'année en année et où les plantes sont soumises à des périodes plus ou moins longues de déficit hydrique (Boyer, 1982). Il existe de nombreuses définitions du stress hydrique. En agriculture, il est défini comme un déficit marqué et ce compte tenu des précipitations qui réduisent significativement les productions agricoles par rapport à la normale pour une région de grande étendue (Mckay, 1985 in Bootsma *et al.*, 1996). En effet, on assiste à un stress hydrique lorsque la demande en eau dépasse la quantité disponible pendant une certaine période ou lorsque sa mauvaise qualité en limite l'usage (Madhava Rao *et al.*, 2006).

2.1 -Mécanismes d'adaptation des plantes au stress hydrique

Pour lutter contre le manque d'eau, les plantes développent plusieurs stratégies adaptatives qui varient en fonction de l'espèce et des conditions du milieu (esquive, évitement et tolérance) (Turner, 1986 a). La résistance d'une plante à une contrainte hydrique peut être définie, du point de vue physiologique, par sa capacité à survivre et à s'accroître et du point de vue agronomique, par l'obtention d'un rendement plus élevé que celui des plantes sensibles (Madhava Rao *et al.*, 2006). La résistance globale d'une plante au stress hydrique apparaît comme le résultat de nombreuses modifications phénologiques, anatomiques, morphologiques, physiologiques, biochimiques et moléculaires qui interagissent pour permettre le maintien de la croissance, du développement et de production (Hsissou, 1994).

A- Adaptation phénologique

Pour éviter les périodes difficiles pour la croissance et le développement, certaines variétés accomplissent leur cycle de développement avant l'installation de stress hydrique. La précocité constitue donc un important mécanisme d'évitement au stress hydrique de fin de cycle (Ben Naceur *et al.*, 1999). Dans ces conditions, les paramètres phénologiques d'adaptation ou paramètres de précocité définissent le calage du cycle vis-à-vis des contraintes environnementales (Ben Naceur *et al.*, 1999). La précocité assure une meilleure efficacité de l'utilisation de l'eau. En effet, en produisant la biomasse la plus élevée, les génotypes à croissance rapide et à maturité précoce utilisent mieux l'eau disponible et ils sont moins exposés aux stress environnementaux que les génotypes tardifs (Bajji, 1999). Le rendement en grains est positivement corrélé à la précocité d'épiaison (Gonzalez *et al.*, 1999).

En effet, les variétés qui ont une vitesse de croissance élevée ont la capacité de mieux utiliser les sources nutritives à la fin du cycle de développement lorsque celles-ci deviennent limitantes (Poorter, 1989). La précocité à l'épiaison peut donc être utilisée comme critère de sélection pour améliorer la production dans les zones sèches. C'est l'un des traits les plus importants dans l'adaptation des plantes au stress hydrique (Ben Salem *et al.*, 1997).

B- Adaptation morphologique

L'effet du stress hydrique peut se traduire, selon la stratégie adaptative de chaque espèce ou génotype, par des modifications morphologiques pour augmenter l'absorption

d'eau et pour diminuer la transpiration et la compétition entre les organes pour les assimilés. Ces modifications affectent la partie aérienne ou souterraine (Bajji, 1999).

C- Adaptation physiologique

La stratégie de la tolérance est mise en œuvre par les plantes grâce à l'abaissement du potentiel hydrique qui maintient la turgescence (Sorrells *et al.*, 2000).

Les mécanismes intervenant dans la tolérance assurent l'hydratation cellulaire et diminuent la perte en eau en maintenant un statut hydrique favorable au développement foliaire. La réduction des pertes en eau par la fermeture stomatique est un moyen d'adaptation des plantes au stress. Cette diminution de la transpiration engendre une réduction de la photosynthèse. Les génotypes qui ont la capacité photosynthétique intrinsèque la moins affectée par le stress présentent une efficacité de l'utilisation de l'eau élevée et une plus grande capacité de survie (Araus *et al.*, 2002).

L'adaptation à des milieux aux régimes hydriques variables est en partie associée à l'ajustement osmotique (Richards *et al.*, 1997). L'ajustement osmotique constitue le processus majeur permettant à la cellule de maintenir sa turgescence sous contrainte hydrique (Zhang *et al.*, 1999). L'ajustement osmotique est réalisé grâce à une accumulation des solutés conduisant à un maintien du potentiel de turgescence. Les solutés responsables de la régulation osmotique sont essentiellement des acides organiques, des acides aminés (proline, glycinebétaine), des sucres solubles et certains constituants inorganiques (Richards *et al.*, 1997).

D- Adaptation biochimique :

La plante réagit au stress en mettant en œuvre diverses stratégies de défense, elle perçoit un stimulus qui engendre l'émission de signaux. Ceux-ci sont transmis à l'intérieur de la cellule déclenchant l'activation de gènes codant pour des enzymes du métabolisme secondaire pour synthétiser diverses molécules de défense.

(Kangasjarvi & *al.*, 1994 ; Pell *et al.*, Noctor & 1998). Cette ligne de défense est constituée principalement de trois enzymes: la superoxyde dismutase (SOD), la catalase et les peroxydases (POX). Ces enzymes agissent directement sur les espèces réactives mais leur action est parfois insuffisante.

E- III- Métabolisme secondaire

Les métabolites secondaires (aussi appelés produits naturels) sont des molécules organiques non directement impliquées dans le développement ou la reproduction d'un organisme. Leur absence n'entraîne pas une mort immédiate mais peut limiter la survie, la fécondité ou l'apparence d'un organisme. Cette absence peut aussi n'avoir aucun effet.

Les métabolites secondaires ont essentiellement pour rôle d'accroître la compétitivité de l'organisme qui les biosynthétise : les métabolites secondaires lui procure un avantage sur d'autres organismes.

1- Les polyphénols

Le terme « polyphénol » a été introduit en 1980, en remplacement de l'ancien terme de « tanin végétal ». L'expression « composés phénoliques » est aussi employée avec la même valeur.

Les polyphénols constituent une famille de molécules organiques largement présente dans le règne végétal. Ils sont caractérisés, comme l'indique le nom, par la présence d'au moins deux groupes phénoliques (database ,2015) associés en structures plus ou moins complexes, généralement de haut poids moléculaire. Ces composés sont les produits du métabolisme secondaire des plantes.

2- Flavonoïde

Les flavonoïdes (ou bioflavonoïdes) sont des métabolites secondaires des plantes partageant tous une même structure de base formée par deux cycles aromatiques reliés par trois carbones : C₆-C₃-C₆, chaîne souvent fermée en un hétérocycle oxygéné hexa- ou pentagonal. Certains auteurs, comme Bruneton 2009 , préfèrent séparer, pour tenir compte de leurs propriétés particulières, les dérivés flavaniques, les anthocyanosides et les isoflavonoïdes et conserver l'appellation de flavonoïdes stricto sensu pour les autres.

Les flavonoïdes sont responsables de la couleur variée des fleurs et des fruits et représentent une source importante d'antioxydants dans notre alimentation. Ils forment une sous-classe des polyphénols. Il y en a plus de 6000 à avoir été décrits chez les plantes.

3. Anthocyane

Les anthocyanes sont des pigments naturels des feuilles, des pétales et des fruits, situés dans les vacuoles des cellules, solubles dans l'eau, allant du rouge orangé au bleu pourpre dans le spectre visible.

Ces composés existent sous forme d'hétérosides formés par la condensation d'une molécule non glucidique (appelé aglycone) et d'oses et souvent, de groupes acyles. L'aglycone qui les caractérise est un anthocyanidol de la classe des flavonoïdes. En 2006, 539 anthocyanosides ont été recensés.

Les anthocyanosides sont présents dans un certain nombre de végétaux tels que myrtille, mûre, cerise, raisin noir, orange sanguine, aubergine, pomme de terre vitelotte, prune, bleuet (airelle bleue du Canada, ne pas confondre avec le Bleuet des champs), mauve, etc. Ils donnent leur couleur aussi bien aux feuilles d'automne qu'aux fruits rouges. Ils jouent un rôle important dans la pollinisation des fleurs et la dispersion des graines, ainsi que dans la protection des plantes contre les agressions du milieu (froid, lumière, ravageurs, etc.).

Leur fort pouvoir colorant, leur solubilité en milieu aqueux et leur absence de toxicité font des anthocyanosides des colorants naturels susceptibles de remplacer les colorants synthétiques utilisés dans l'industrie agroalimentaire. Enfin, leur activité anti-oxydante laisse supposer que leur apport par l'alimentation pourrait jouer un rôle bénéfique dans la santé humaine, notamment dans le domaine des risques cardiovasculaires.

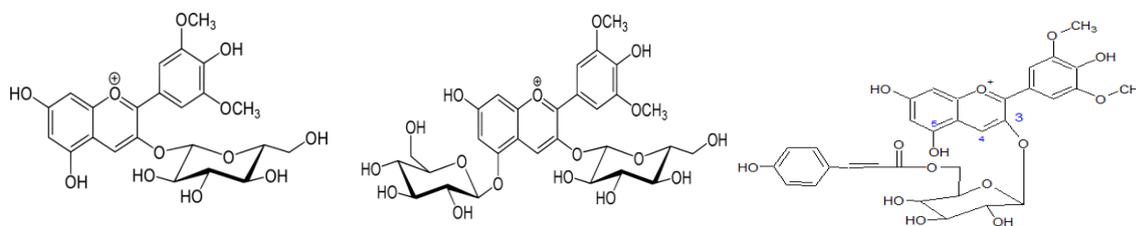
3.1. Structure

Les anthocyanosides sont les hétérosides d'anthocyanidines, c'est-à-dire des anthocyanidols portant des sucres. Ils sont principalement basés sur six anthocyanidols : cyanidine, delphinidine, pélargonidine, péonidine, pétunidine et malvidine, construits sur le même squelette flavylum responsable de la couleur du composé. Si l'aglycone est le groupement chromophore du pigment c'est aussi un noyau très réactif aux nucléophiles qui confère une certaine instabilité à ces molécules. Elles sont donc rarement présentes sous cette forme dans les tissus végétaux. Par contre, il suffit de l'addition d'un glucide en position C-3 du cycle central pour les stabiliser.

La partie osidique des anthocyanosides peut être un monosaccharide (glucose, galactose, rhamnose), un diholoside (rutinose constitué d'un glucose lié à un rhamnose, xyloglucose) ou parfois un triholoside¹. La plupart des anthocyanosides sont des 3-monosides et des 3, 5-diosides d'anthocyanidols. Il existe aussi des diosides liés en 3, 7 et des triosides liés en 3, 5, 3'.

De nombreux anthocyanosides sont en outre acylés par :

- des acides hydroxycinnamiques : acides 4-coumarique, caféïque, férulique, sinapique ;
- des acides benzoïques : acide gallique ;
- des acides aliphatiques carboxyliques : acide acétique, ou des acides dicarboxyliques comme les acides malonique, malique, oxalique, succinique. Ces acides estérifient un hydroxyle de sucre, généralement sur leur C-6".



3-glucoside de malvidine 3,5-diglucoside de malvidine 3-coumaroyl-6-glucoside de malvidine

Fig. 3 Quelques structures d'anthocyanosides

Les anthocyanosides avec une seule liaison glycosidique en position C-3 sont facilement hydrolysables par catalyse acide et redonnent l'aglycone (l'anthocyanidol) d'origine. Les anthocyanosides possédant deux liaisons glycosidiques en position 3 et 5 sont déjà plus résistants à l'hydrolyse acide. Les diglycosides sont donc plus stables que les monoglycosides. Enfin, la présence de groupements acyles liés aux sucres assure une protection supplémentaire du noyau pyrylium contre les attaques nucléophiles (de l'eau en particulier). De nombreux facteurs peuvent influencer la dégradation des anthocyanosides : l'acidité, la température de stockage, la structure chimique, la lumière, etc...

3.2. Facteurs influençant la couleur

Les anthocyanosides couvrent une large palette de couleurs dépendant de la nature des substitutions (OH, CH₃) caractérisant le noyau central de l'aglycone (cf. anthocyanidol qui joue le rôle de chromophore) mais ces couleurs dépendent aussi du pH, de la présence de copigments, d'ions métalliques (fer, aluminium), d'alcool, etc...

A- Influence du pH

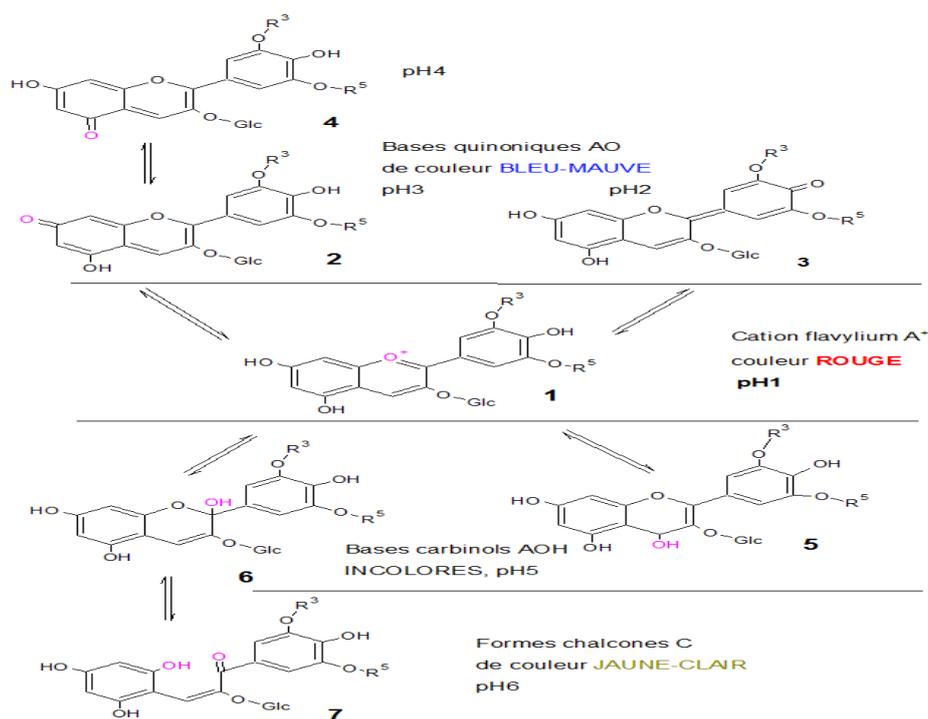


Fig.4 Équilibre des anthocyanosides en solution aqueuse, de pH1 à pH 6-7

Les anthocyanosides sont particulièrement sensibles au changement de pH, en passant du rouge en milieu acide (pH faible) au bleu en pH intermédiaire et en devenant incolores puis jaune clair en milieu basique. Ils peuvent donc être utilisés comme de véritables indicateurs colorés.

En milieu aqueux, quatre formes coexistent en équilibre

le cation flavylum A⁺ (1), de couleur **rouge** ;

- les bases quinoniques AO (2, 3 et 4), de couleur **bleu-mauve** ;
- les bases carbinols AOH (5 et 6), incolores ;
- les chalcones C (7), de couleur **jaune** clair.

L'étude cinétique de ces équilibres a permis d'établir les vitesses de réaction régissant l'équilibre entre ces quatre formes. En milieu fortement acide (pH 1), le cation flavylum **1** prédomine largement et contribue à la coloration rouge ou pourpre. Lorsque le pH s'élève plusieurs formes coexistent. Pour un pH compris entre 2 et 4, les bases quinoniques sont prédominantes et tirent la teinte vers le bleu. Pour un pH entre 5 et 6, deux espèces supplémentaires apparaissent : une pseudobase carbinol, **4**, incolore et une chalcone, **6**, jaune clair. Enfin, à pH supérieur à 7, les anthocyanosides sont dégradés.

B- Influence des copigments

Les anthocyanosides tendent à créer entre eux ou avec d'autres composés phénoliques des assemblages dits de copigmentation³ qui améliorent leur pouvoir colorant, leur tonalité et leur stabilité. Les copigments sont généralement incolores mais quand on les mélange avec des anthocyanosides, l'interaction produit un effet hyperchromique. Les copigments peuvent être des flavonoïdes, des alcaloïdes, des acides aminés, des acides organiques, des nucléotides, des polysaccharides, des ions métalliques ou d'autres anthocyanosides.

L'effet le plus manifeste de la copigmentation se manifeste dans un milieu faiblement acide (pH 4-6) quand les anthocyanosides sont sous la forme incolore.

3.3. Occurrence

Les anthocyanes sont des pigments présents uniquement dans la vacuole des plantes, et chez les champignons, mais ne sont pas trouvés chez les animaux. En effet, la biosynthèse des anthocyanes passe principalement, comme les autres flavonoïdes, par la voie métabolique des phénylpropanoïdes. En revanche, toutes les plantes terrestres ne contiennent pas d'anthocyanes. Chez les Caryophyllales, les Cactus et les Galium, ils sont remplacés par les bêtacyanines.

3.4. le rôle des anthocyanes

Les anthocyanes auraient un rôle protecteur pour la plante : en absorbant les UV, elles agiraient en bouclier pour l'ADN et les protéines cellulaires. De plus, leur couleur leur confère un rôle dans la pollinisation par l'attraction des espèces pollinisatrices.

Les anthocyanes ont un effet « désherbant » qui limite la concurrence pour le développement des graines des plantes qui en produisent. (Christina Schallenberg., 2005).

3.5. Activités biologiques

3.5.1. Activité antioxydante

Les anthocyanosides et leurs aglycones, comme tous les polyphénols, possèdent des groupes hydroxyles phénoliques, Ar-OH, pouvant fournir aux radicaux libres des H capables de les neutraliser.

La comparaison de la capacité antioxydante des anthocyanosides avec d'autres polyphénols présents dans le vin rouge a été effectuée par Fauconneau *et al*. Ils ont testé les composés par trois méthodes : la capacité à prévenir la peroxydation des microsomes (une membrane riche en acides gras polyinsaturés), du LDL et le piégeage direct des radicaux libres DPPH[•]. Les trois méthodes ont donné une plus grande activité à la (+)-catéchine et à l'(-)-épicatéchine suivies par les deux anthocyanosides testés (malvidine-3-glucoside et péonidine-3-glucoside) et enfin le trans-resveratrol :

t-resveratrol < Mv-3-gluc, Peo-3-gluc < (-)-épicatéchine, (+)-catéchine

L'activité de piégeage du peroxydant^{N 4} donne à peu près la même activité antioxydante¹⁹ aux 3-glucosides de malvidine et de delphinidine qu'aux flavanols ((+)-catéchine, épicatéchine) mais moins qu'à leurs dimères ou trimère (des tanins condensés) :

Pet-3-gluc < Mv-3-gluc, Dp-3-gluc, catéchine, épicat. < dimères B1, B2 < trimère

3.6. Biosynthèse

Les débuts de la compréhension de biochimie des anthocyanidols remonte à 1913 quand Willstätter et ses collègues ont montré que les pigments d'une grande variété de plantes dérivait tous de trois anthocyanidols : la pélargonidine, la cyanidine et la delphinidine. Après 1960, à la description biochimique des multiples étapes de la biosynthèse a pu être associée la description de gènes codant les enzymes impliquées dans les réactions.

La description des 6 anthocyanidols principaux est de première importance puisqu'ils sont présents dans 90 % des anthocyanosides identifiés. Ils sont tous hydroxylés en 3, 5, 7. Il convient de distinguer ceux dont le cycle B ne comporte que des hydroxyles (pélargonidine avec un OH, cyanidine avec deux OH et delphinidine avec trois OH) des trois autres dont le cycle B est méthoxylé. Les glucosides de ces derniers s'obtiennent par dérivation des glucosides des trois premiers.

Ainsi la biosynthèse comporte une voie commune puis 3 voies parallèles aboutissant à la pélargonidine, la cyanidine et la delphinidine.

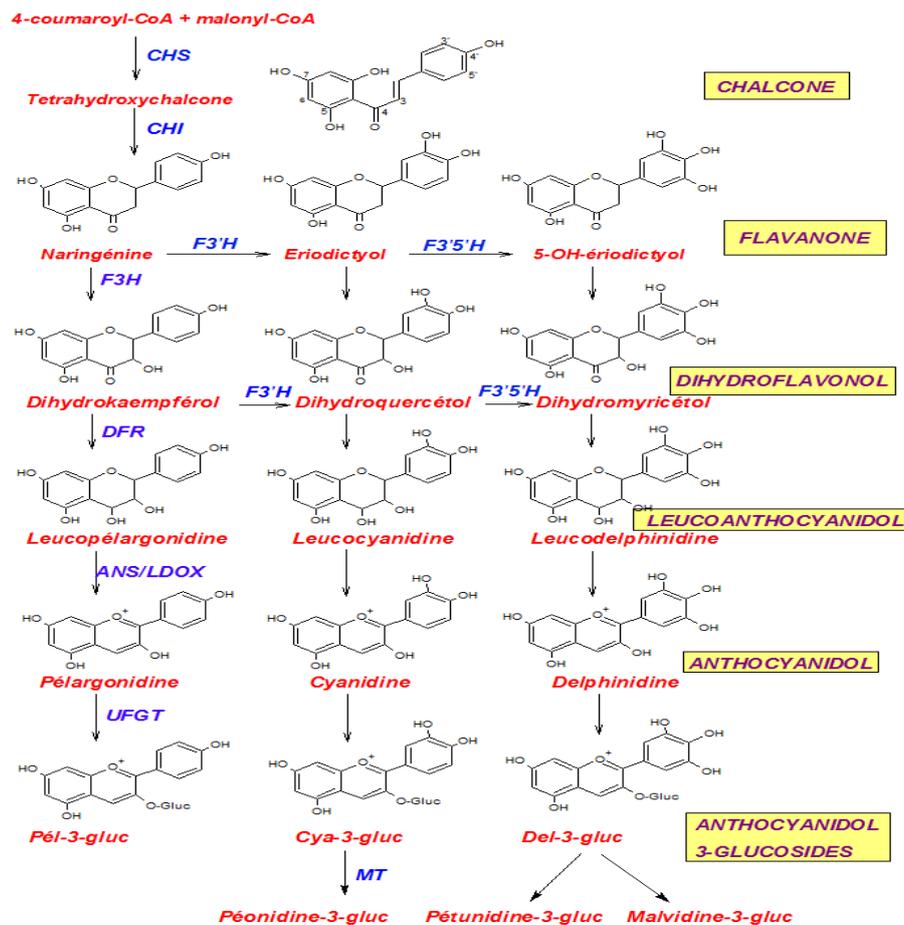


Fig 05 : Voies de biosynthèse des anthocyanosides

IV. Chloroplaste

Les chloroplastes sont des organites présents dans le cytoplasme des cellules eucaryotes photosynthétiques (plantes, algues). Ils sont sensibles aux expositions des différentes ondes du spectre lumineux. Ils jouent un rôle essentiel dans le fonctionnement d'une cellule végétale étant donné qu'ils permettent de capter la lumière à l'origine de la photosynthèse. Par l'intermédiaire de la chlorophylle qu'ils possèdent et de leurs ultrastructures, ces organites sont capables de transférer l'énergie véhiculée par les photons à des molécules chimiques (eau). Les chloroplastes jouent un rôle important dans le cycle du carbone, par la transformation du carbone atmosphérique en carbone organique. Les chloroplastes appartiennent à une famille d'organites appelés les plastes ; ceux-ci sont le fruit de l'endosymbiose d'une cyanobactérie, il y a environ 1,5 milliard d'années.

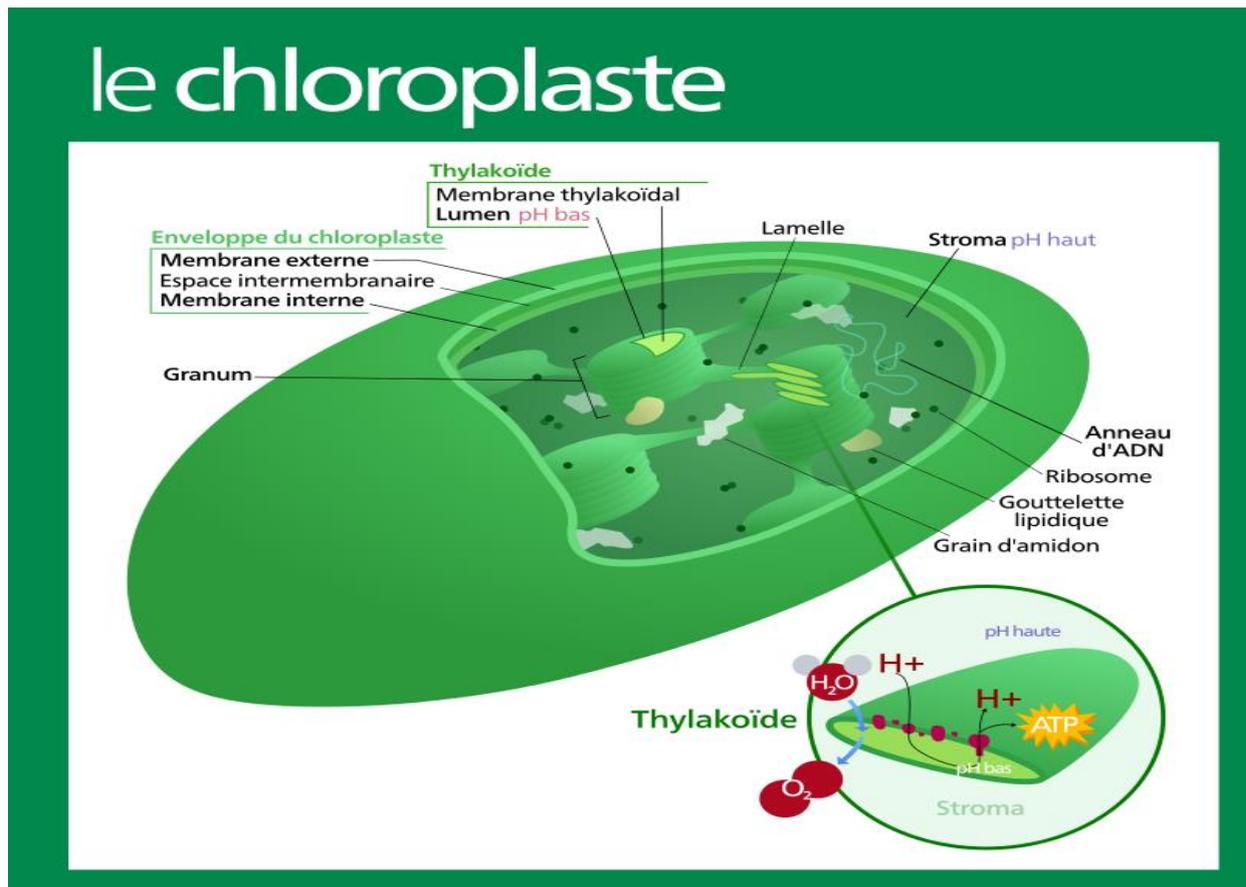


Fig 6:chloroplaste d'une plante supérieure

1- Chlorophylle

La chlorophylle est le principal pigment assimilateur des végétaux photosynthétiques. Isolé en 1816 par Joseph Bienaimé Caventou et Joseph Pelletier, ce pigment, situé dans les chloroplastes des cellules végétales, intervient dans la photosynthèse pour intercepter l'énergie lumineuse, première étape dans la conversion de cette énergie en énergie chimique. Son spectre d'absorption du rayonnement lumineux est responsable de la couleur verte des végétaux ; la longueur d'onde la moins absorbée étant le vert, c'est donc cette couleur qui est perçue dans la lumière réfléchie vers l'œil par la feuille.

1.1.Différentes formes de chlorophylle

Il existe plusieurs formes de chlorophylle différenciables selon leur structure chimique :

- La chlorophylle a (symbole : « *chl a* ») est le pigment photosynthétique le plus commun du règne végétal ; il est présent chez tous les végétaux aquatiques et terrestres (≈ 3 g/kg de feuilles fraîches). La mesure de sa concentration dans l'eau est utilisée comme indicateur de la

quantité de plancton végétal (phytoplancton, base principale du réseau trophique aquatique). Les taux de l'eau en chlorophylle sont donnés en $\mu\text{g chl a/L}$.

- La chlorophylle b se trouve chez les cormophytes (végétaux supérieurs) et les chlorophycées (algues vertes) à des teneurs moindres ($\approx 0.75 \text{ g/kg MF}$).

1.2. Structure chimique et biosynthèse

La chlorophylle est une chlorine chélatant un cation de magnésium Mg^{2+} au centre du macrocycle et estérifiant — hormis les chlorophylles *c* — un alcool terpénoïde en C_{20} , le phytol, qui est hydrophobe et sert d'ancrage à des protéines des membranes thylacoïdes. Elle présente une structure quasi-identique à celle de l'hème des érythrocytes, les globules rouges du sang. C'est la présence, dans sa structure, de nombreuses doubles liaisons conjuguées qui permet une interaction avec le rayonnement lumineux et son absorption. Les chaînes latérales de la chlorine sont variables et ceci entraîne une modification du spectre d'absorption entre les différentes familles de chlorophylles.

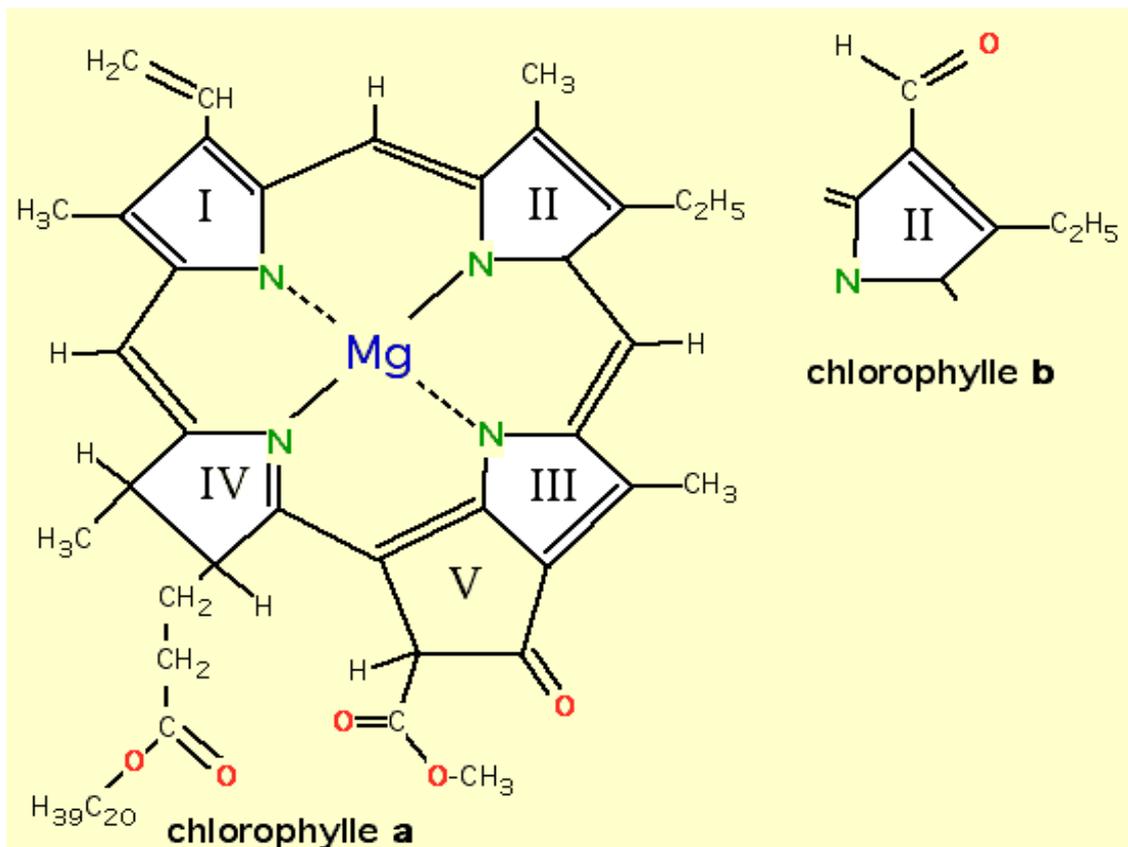
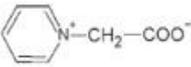
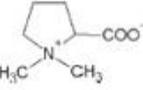
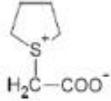
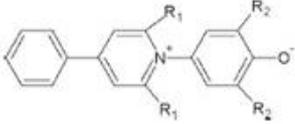


Fig7 :Structure des chlorophylles a, b

V- Glycine bétaine

Les bétaines sont les composés zwitterioniques dont l'atome portant la charge positive ne porte pas d'atome d'hydrogène et n'est pas adjacent à l'atome portant la charge négative Union internationale de chimie pure et appliquée (IUPAC). Les bétaines n'admettent pas de formes limites sans charge. Historiquement, le terme désigne les ammoniums quaternaires dérivés des acides aminés. Le nom de bétaine vient de la betterave sucrière d'où a été extraite la première bétaine découverte, la triméthylglycine(TMG, historiquement appelée « bétaine ») aujourd'hui appelée « glycine bétaine ».

tableau 2 présente les structures de quelques bétaines.

Noms	Formules chimiques	Références
Glycine bétaine	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{H}_3\text{C}-\text{N}^+-\text{CH}_2-\text{COO}^- \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	Peddie et al., 1998
Triéthylglycine bétaine	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2 \\ \\ \text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2-\text{N}^+-\text{CH}_2-\text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2 \end{array}$	Peddie et al., 1998
Alanine bétaine	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{H}_3\text{C}-\text{N}^+-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \quad \\ \text{CH}_3 \quad \text{CH}_3 \end{array}$	Peddie et al., 1998
Alkyl sulfobétaine	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{C}_n\text{H}_{2n+1}-\text{N}^+-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{SO}_3^- \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$ <p>$n = 12,14,16$</p>	Glosh et al., 2000 ; Wydro et al., 2005
Pyridinium bétaine		Peddie et al., 1998
Proline bétaine		Storer et al., 2006
Thiolanium bétaine		Peddie et al., 1998
Phényl-3-pyridinium-N-phénolate bétaine substitué		Vodolaskaya et al., 2003

VI-Fonctions métaboliques

Divers organismes végétaux (plantes supérieures, algues et bactéries) synthétisent des bêtaines comme molécules osmorégulatrices ou cryoprotectrices . Ces molécules leur permettent de résister au froid ou au sel , en particulier chez les extrêmophiles. Les bêtaines permettent aussi à certaines plantes (Plumbaginaceae) de mieux résister à la chaleur et au stress hydrique via une synthèse irréversible de glycine bétaine, la méthylamine la plus courante et la mieux distribuée chez les végétaux, produite dans les tissus chlorophylliens via la choline et ensuite transportée dans les tissus en croissance par le phloème.

Chez le plancton, la glycine bétaine (GB) ou triméthylglycine (TMG) est l'analogue azoté du Defense Meteorological Satellite Program (DMSP) qui joue un grand rôle dans le cycle du soufre entretenu par le phytoplancton marin, mais qui est moins efficace contre les chocs osmotiques car moins rapidement produit et dégradé que le glycine bétaine. Le Defense Meteorological Satellite Program (DMSP), plutôt que d'équilibrer la balance osmotique cellulaire, jouerait plutôt un rôle de tampon au début d'un choc osmotique (Kirst, 1996). Il pourrait se substituer à la glycine bétaine (et à d'autres composés osmolytes contenant de l'azote) comme soluté compatible lorsque l'azote manque dans le milieu .

V.2. Le rôle , le mécanisme et les nouveaux concepts

Glycine bétaine accumule dans une variété d'organismes sous contraintes abiotiques et a été étudié dans de grands détails.(Chen TH et Murata N,2002) (Bohnert HJ et Jensen RG,1996) plantes connues pour accumuler Glycine bétaine naturellement ont été signalés pour bien grandir dans la sécheresse et une solution saline environnement. . (Chen TH et Murata N,2008).

Accumulation de Glycine bétaine transgénique pomme exprimant le gène régulateur de tension, *Osm4* , est liée à l' amélioration de la sécheresse et la tolérance au froid. .(Pasquali *Get al.*, 2008) .

Application exogène du document Glycine bétaine permet d'améliorer le taux de croissance des plantes et à la survie dans une variété de contraintes(Parc EJ., *et al* 2006) et dans des bactéries d' origine alimentaire *Listeria monocytogenes* . (Dreux N *et al.*, 2008) . est synthétisé soit par oxydation de la choline ou par trois voies connues.

Dans les plantes, la monooxygénase enzyme choline Organisations communes de marché (OCM) convertit la première choline en bétaine aldéhyde et puis un NAD⁺enzyme dépendante, la bétaine aldéhyde déshydrogénase (BADH) produit glycine bétaine. Ces

enzymes se trouvent principalement dans le stroma des chloroplastes et leur activité est augmentée en réponse à un stress salin. Dans *E. coli*, la glycine betaine est synthétisée par la choline déshydrogénase enzyme (CDH) ainsi que la bétaine aldéhyde déshydrogénase. Alors que dans la bactérie du sol, *Arthrobacter globiformis*, choline oxidaseA (codA) convertit choline en la glycine betaine et H₂O₂ en une seule étape.

V.3. L'utilisation de gènes de biosynthèse de Glycine betaine dans des plantes transgéniques

Les principales céréales comme le blé, le maïs et l'orge ne s'accumulent pas quantité importante de Glycine betaine naturellement. Cela pourrait être dû à la production de transcrits tronqués pour Glycine betaine enzyme de synthèse la bétaine aldéhyde déshydrogénase, dans les céréales. (Niu X *et al.*, 2007). Parmi ceux-ci, le riz est la seule céréale qui n'accumule pas la Glycine betaine naturellement (Shirasawa K *et al.*, 2006).

Le riz a deux la bétaine aldéhyde déshydrogénase et un des gènes codant pour des OCM, cependant, pas d'accumulation Go se produit dans le riz sous contrainte. Les transcriptions de Badh sont traitées d'une manière inhabituelle dans le riz entraînant l'élimination du codon d'initiation de la traduction, la perte de domaines fonctionnels et des codons d'arrêt prématurés. (Niu X *et al.*, 2007). Cependant, certaines transcriptions Badh correctement épissés ont également été signalés à partir de riz. Exactement les mêmes observations ont été faites pour les transcriptions de l'OCM du riz par un même groupe. (Luo D *et al.*, 2007) Cependant, les plants de riz transgéniques exprimant fonctionnelle la bétaine aldéhyde déshydrogénase (*BADH*) gène à partir d'orge pourrait convertir de manière exogène appliquée bétaine aldéhyde Glycine betaine à un niveau meilleur que les plantes (Takanami *et al.*, 2000).

Introduction d'épinards *CMO* gène du riz également entraîné une accumulation de quantité détectable de Glycine betaine. (Shirasawa K *et al.*, 2006). Par conséquent, le riz produit des très réduite quantité de la bétaine aldéhyde déshydrogénase fonctionnelle et protéines OCM résultant en une quantité indétectable de la synthèse Glycine betaine.

Fait intéressant, la bétaine aldéhyde déshydrogénase gène a été lié à parfum dans le riz (Fitzgerald TL *et al.*, 2009). Comme riz nombreuses plantes cultivées ne sont pas capables d'accumuler Glycine betaine naturellement pendant le stress abiotique.

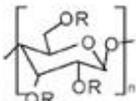
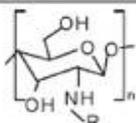
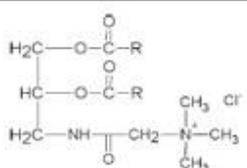
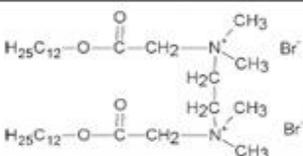
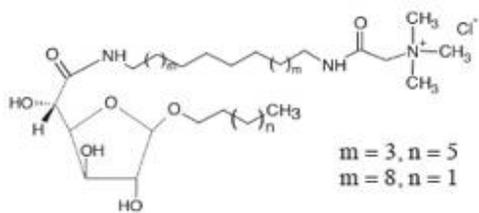
La glycine bétaine est utilisée dans le traitement de l'homocystéinurie et de l'homocystéinémie, une élévation de la concentration de l'homocystéine dans les urines et dans le plasma respectivement (Yagisawa *et al.*, 2006 ; Atkinson *et al.*, 2009).

L'administration de la bétaine a montré des effets protecteurs contre les blessures du foie induites par les médiateurs de l'oxydation de l'éthanol, du chloroforme et des lipopolysaccharides (Kim *et al.*, 2005) ; les déficiences du système cardiovasculaire (Stepnova *et al.*, 2007) ; vis-à-vis de l'accumulation d'espèces d'oxygène réactives et de la peroxydation de lipides (Banu *et al.*, 2009). En biotechnologie, la bétaine et la choline ont été largement utilisées comme donneurs du groupe méthyle pour la fermentation industrielle de la vitamine B12 par les *Pseudomonas dénitrifiants* (Li *et al.*, 2008).

La glycine bétaine est très soluble dans l'eau et augmente sa tension superficielle (Söderlund *et al.*, 2002). Pour exploiter ses propriétés bénéfiques citées ci-dessus, de nombreux auteurs ont synthétisé des dérivés de la glycine bétaine par substitution d'un radical méthyle, par un radical alkyle à longue chaîne (Hines *et al.*, 1997 ; Li *et al.*, 2005), par un radical alkylamidopropyle (Tegeler *et al.*, 1995 ; Guan *et al.*, 1997), par estérification de son groupement carboxylique par des alcools gras ou des polysaccharides (Auzély-Velty *et al.* 2003) ; (Granö *et al.*, 2000) ou encore par amidation du groupement carboxylique avec le chitosan ; (Korjamo *et al.*, 2008) ou le 3-amino-1,2-propanediol (Floch *et al.* 1998).

Une des voies de synthèse vise à construire des molécules tensioactives à base de glycine bétaine. Celles-ci permettent de répondre aux exigences de plus en plus strictes en termes de qualité environnementale (Noiret *et al.*, 2002) et de développer des caractéristiques fonctionnelles bien précises, deux critères recherchés par l'industrie des tensioactifs.

Le tableau 3: quelques dérivés de la glycine bêtaïne.

Noms	Structures	Références
Alkylbêtaines	$\text{C}_n\text{H}_{2n+1}-\text{N}^+(\text{CH}_3)_2-\text{CH}_2-\text{COO}^-$ <p>(n = 8, 10, 12, 14, 16)</p>	Li et al., 2005
DiméthylDodécylamidobétaïne	$\text{H}_{25}\text{C}_{12}-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-\text{N}^+(\text{CH}_3)_2-\text{CH}_2-\text{COO}^-$	Hall-Manning et al., 1998 ; Tegeler et al., 1995
Cocoamidopropylbétaïne	$\text{H}_{25}\text{C}_{12}-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{N}^+(\text{CH}_3)_2-\text{CH}_2-\text{COO}^-$	Tegeler et al., 1995
N-(3-Alkoxy-2-Hydroxypropyl)-N,N-diméthylglycine	$\text{C}_n\text{H}_{2n+1}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{N}^+(\text{CH}_3)_2-\text{CH}_2-\text{COO}^-$ <p>(n = 8-16)</p>	Guan et al., 1997
Alkylbêtaines (esters)	$\text{H}_3\text{C}-\text{N}^+(\text{CH}_3)_2-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-\text{C}_n\text{H}_{2n+1}$ <p>(n = 2, 10, 12, 14)</p>	Lundberg et al., 2004 ; Tehrani-Bagha et al., 2007a
Bétaïne d'amidon	 $\text{R} = \text{H} \text{ ou } (\text{CH}_3)_3\text{N}^+-\text{CH}_2-\text{CO}^-$	Granö et al., 2000 ; Auzély-Velty et al., 2003
N-bétaïne de chitosan	 $\text{R} = (\text{CH}_3)_3\text{N}^+-\text{CH}_2-\text{CO}^-$	Holapa et al., 2006 ; Mourya et al., 2008
N-bétaïnylamino-3-dialkylolglycerol		Floch et al., 1998
Dodécyl bêtaïne dimère (gemini)		Tehrani-Bagha et al., 2007a
Amphiphiles bipolaires (bolaamphiphiles) avec une tête de glycine bêtaïne	 <p>m = 3, n = 5 m = 8, n = 1</p>	Berchel et al., 2008

V.4.Méthodes de synthèse par voie chimique des dérivés tensioactifs de la glycine bêtaïne :

V.4.1. Synthèse des alkylbêtaïnes :

Le chlorure de dodécylbêtaïne ($C_{12}Be$) a été synthétisé et purifié par différentes méthodes. Une des méthodes consiste à faire réagir le chloroacétate de sodium avec la N,N-diméthylamine-N-dodécylamine dans une solution aqueuse d'éthanol à reflux pendant 18 h. Le mélange est alors refroidi et séché. Le solide résultant est dissous dans de l'isopropanol, filtré pour enlever les solides inorganiques et séché. Le résidu est recristallisé d'abord dans de l'acétone et ensuite dans de l'acétate d'éthyle. La recristallisation est répétée jusqu'à ce qu'une pureté suffisante soit atteinte (Hines *et al.*, 1997).

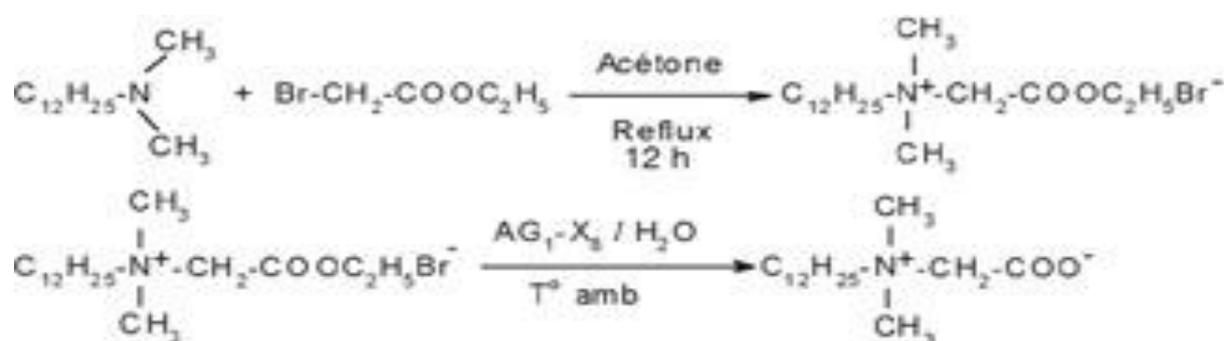


Fig8 : Synthèse de dodécylbêtaïne

V.4.2. Synthèse des alkylbêtaïnes

La glycine bêtaïne peut être directement utilisée comme réactif chimique pour former des esters avec des alcools gras. Cependant, à cause de sa faible réactivité, elle est communément utilisée sous une forme activée, le chlorure d'acyle (Auzély-Velty *et al.*, 2003). Les alkylbêtaïnes ou esters de la glycine bêtaïne avec des alcools gras sont synthétisés en deux étapes. Avant l'acylation, la première étape consiste en l'activation du composant carboxyle ou du composant carbonyle.

A. Activation des acides organiques

Les acides organiques ou composants carboxyles peuvent être activés sous forme d'halogénures d'acyle (chlorure d'acyle, bromure d'acyle ou fluorure d'acyle), acyl azides, acylimidazoles, anhydride, esters, etc. Un agent d'acylation intermédiaire est formé, isolé et ensuite soumis à l'alcoolyse. Les réactifs chlorés sont le plus fréquemment utilisés pour activer la glycine bêtaïne.

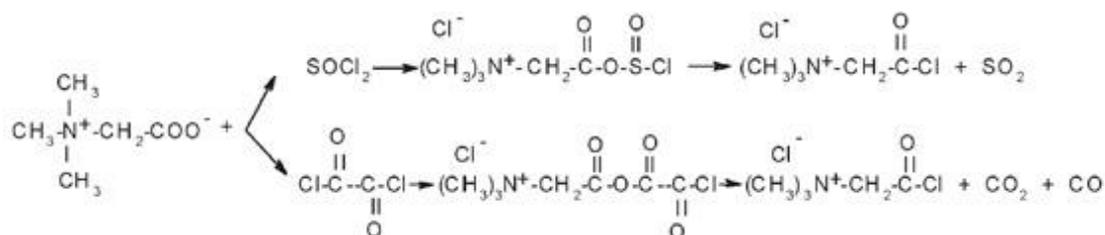


Fig9 : la formation du chlorure de bêtaïne à l'aide des réactifs chlorés les plus utilisés, le chlorure de thionyle et le chlorure d'oxalyle.

B. Activation des alcools

La première étape consiste à activer un alcool ou un composant carbonyle en halogénure d'alcoyle qui sera ensuite soumis à une aminolyse dans la deuxième étape. Les réactifs chlorés et bromés sont les plus utilisés pour activer les alcools. Notons que cette procédure fait intervenir la triméthylamine comme réactif d'aminolyse, plutôt que la glycine bêtaïne. Les réactifs les plus utilisés pour produire les halogénures d'alcoyles à partir des alcools gras primaires sont le chlorure de chloroacétyle (ClCH_2COCl) (Lundberg *et al.*, 2004 ; Mohlin *et al.*, 2006) et le bromure de bromoacétyle (BrCH_2COBr) (Tehrani-Bagha *et al.*, 2007a).

111

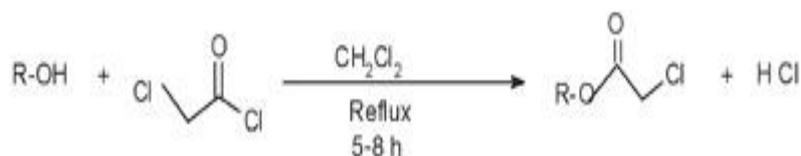


Fig10 : la formation de chloroacétate d'alkyle à l'aide de chlorure de chloroacétyle.

V.4.3. Synthèse de bétainate d'amidon

Granö *et al.* (2000) ont synthétisé le bétainate d'amidon en deux étapes. La première étape a consisté en la synthèse de chlorure de bétainyle à partir de la glycine bétaine et de chlorure de thionyle dans le dichlorométhane. Dans la deuxième étape, l'amidon a réagi avec le chlorure de bétainyle en présence de 1,4-dioxane comme solvant et de la pyridine comme réactif nucléophile et catalyseur.

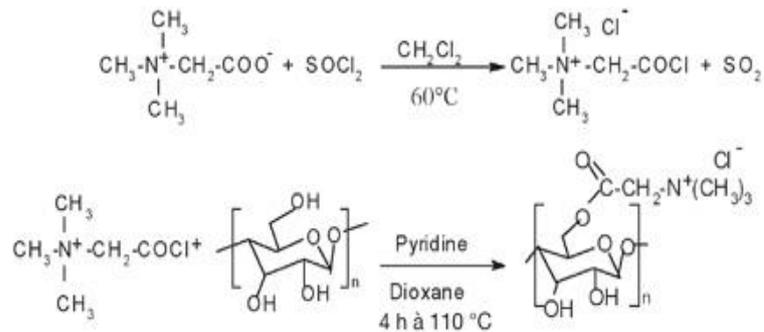


Fig11 : synthétisé le bétainate d'amidon

V.5. Glycine bétaine et la protection des organes de la reproduction au cours du stress abiotique

Le rendement des plantes est severly comporised sous stress abiotiques en raison de la croissance limitée des organes reproducteurs. De nouvelles preuves indiquent vers la protection des organes de la reproduction par Go. (Chen et Murata, 2011).

En effet, la croissance des plantes améliorées en termes de biomasse et le rendement a été signalé dans la tomate transgénique exprimant *codA* gène de *A. Globiformis*. *codA* plants d'*Arabidopsis* transgénique produit environ 22% plus de fleurs et 28% plus de graines que les plantes dans des conditions non stressées (Parc *et al.*, 2004). Ces effets de Glycine bétaine ont été attribués à une accumulation plus élevée dans les organes reproducteurs. Organes reproducteurs; fleurs, siliques et inflorescence accumulé environ 5 fois plus élevé que Glycine bétaine feuilles dans les plantes expressing *codA* gène constitutivement. (Parc *et al.*, 2004). plants de tomates exprimant *codA* gène produit 10-30% plus de fruits que les plantes après refroidissement stress. Tous ces effets sont dus à la protection des organes reproducteurs du stress par l'accumulation localisée plus élevée de Glycine bétaine. (Chen et Murata, 2008).

CHAPITRE II

! MATRIEL ET METHODES

1. Matériel végétal

L'étude a porté sur dix variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.) d'origine diverses, introduits, locales et sélectionnées. (Institut Technique des Grands Culture I.TG.C, Elkhroub-Algérie).

Tableau 4 : Les variétés étudiées et leurs origine.

Génotype	lignage	Origine
V1 :Vitron	Sélection généalogique	Espagne
V2 :Gta dur	GaviotaxDurum6...	Mexique (Gimmyt)
V3 :Waha	Plc/Ruff//Gta/R ^{tte}	Syrie
V4/Cirta	KB2140KB0KB2KB0KB0KB1KB0KB (Hb ₃ /Gdouz619)	Algérie
V5 :B17	Population Locale	Algérie
V6 :Wahbi	KB860221KB-2KB-2KB-0KB	Algérie
v7 :Otb4(3)	Otb ₄ 3/HFN94N-8/Mrb5//Zna-1	Algérie
V8 :Ter(2-1)	Ter-1/3/Stj3//Bcr/Lks4	Algérie
V9 :F4/3	F4 13/3/ Arthur71/Lahn//blk/Lahn /4/Quarmal	Algérie
V10 :Bousselem	CroICD414BLCTR4AP(Heider/Marli/Heider)	Algérie

2. Conduite de l'essai

L'expérimentation à été conduite sous serre (Bio pol, Chaabat Erssas), Université des Frères Mentouri Constantine.

Cette étude à été réalisée en pots, portant sur dix variétés de blé dur dans des conditions expérimentales semi contrôlées (sous serre).

Les dix variétés de blé dur ont été germées dans vingt pots en plastiques contenant un mélange de 2 /3 sol et 1/3 sables sachant que pour chaque variétés un pot témoin et un stressé.

L'étude de la réponse des dix variétés de blé dur face au stress hydrique a été réalisée au début de stade montaison pendant dix jours de suite.



Fig12: Les dix variétés de blé dur (*Triticum durum Desf*)

3- Paramètres étudiés:

Dans cette étude ont pratiqué le dosage des anthocyanes et le dosage de glycine bétaine ,ainsi le dosage de l'intégrité membranaire et de chlorophylle.

3.1. Paramètres biochimiques:

3.1.1. Les anthocyanes: (Eryilmaz, 2006)

Selon le protocole décrit par Eryilmaz,2006, les feuilles sont homogénéisées dans 3ml de méthanol-Hcl (Hcl à 1%).

Les échantillons ont été laissés à 4° C au réfrigérateur pendant 48h.

L'extrait est filtré et utilisé en tant que source des anthocyanes

La teneur en anthocyanes a été mesurée par spectrophotomètre à 520nm.



Fig13: Dosage des anthocyanes.

3.1.2. La glycine bétaine: (Grieve et Grattan, 1983)

- On prend 0.5g de matière végétale et la mettre dans 20ml de l'eau distillé pendant 48h à 25c°
- On laisse au réfrigérateur jusqu'au jour de l'étulisation.
- On ajoute 0.5ml de H₂SO₄ et laissé à la glace pondant 1h
- Mesurés par le spectrophotometre à 365nm



Fig14: dosage de la glycine bétaine.

3.2. Paramètre physiologique :

3.2.1. L'intégrité membranaire:

Le pourcentage d'intégrité cellulaire consiste en une mesure de la libération d'électrolytes suite à la destruction partielle de la membrane plasmique.

Pour commencer nous devons tout d'abord prélever 3 échantillons (3^{ème} feuille) 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 désionisée. Ces derniers ont été fermés hermétiquement avec du coton et du papier aluminium en les maintenant 24h à une température ambiante.

Après ces 24h, on peut effectuer la première lecture à l'aide d'un conductivimètre tout en plaçant délicatement la sonde dans le tube après étalonnage de l'appareil.

La deuxième lecture est effectuée après 24h de la première après avoir autoclavé les tubes à 80°C pendant 20 minutes.

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



Fig15: Dsage de l'intégrité membranaire.

3.2.2. Le chlorophylle:

- Prendre 250mg de feuille fraîche
- Préparer la solution(75% acetone+25% ethanol)
- Prendre 15ml de la solution préparé et la mettre dans les tubes à essai et laisser dans le noir
- Pendant 48h, la lecture est faite par le spectrophotomètre à 649nm.

$$\text{Chlorophylle (A+B) Mg/g} = \text{Chl(A)} * 17.72 + \text{Chl(B)} * 46.6$$



Fig16: dosage de la chlorophylle A et B

4.Traitement et analyse statistique des données :

L'analyse des données des paramètres étudiés ainsi que le calcul des moyennes et la conception des graphiques ont réalisés à l'aide du tableur Excel 2007 pour windows.

Les résultats sont présentés sous forme d'histogrammes , rejoignent le plus Souvent des valeurs moyennes . L'analyse de la variance (ANOVA) à un facteur de classification on été utilisés, le facteur variété, facteur traitement ont été réalisée par l'utilisation d'un logiciel spécifique « exek 2014 » en utilisant le test de NEWMAN-KEULS.

CHAPITRE III
RESULTATS
ET DUSCUSION

Tableau 5 : Les résultats des concentrations différentes étudiées avec des statistiques descriptives

Génotype	Antyocyanes		Glycine bétaine		L'intégrité membranaire		Chlorophylle	
	T	S	T	S	T	S	T	S
Vitro	5.5	33	0	0.2	54.59	75.80	9.2	13.01
Gta dur	12.5	33.33	0.1	2	79.41	67.61	13.56	10.19
Waha	23	24.66	0	0.3	46.59	87.89	9.38	15.23
Cirta	39	15.33	0	3	86.60	74.56	15.04	12.56
B17	11.5	63	0	0.5	49.25	419.43	10.52	14.92
Wahbi	24.5	11.66	0	0.7	46.57	83.68	12.40	10.67
Otb4(3)	43	31	0	1	59.23	91.97	11.77	10.69
Ter (2-1)	65	13.33	0	0.3	59.10	54.02	15.14	12.04
F4/3	33.5	45.33	0	0.2	66.4	61.14	14.22	12.72
Bousselem	36.5	29.66	0	0.3	80	51.49	12.69	10.90
Minimum	1	10	0	0.2	46.57	51.49	9.20	7.27
Maximum	65	69	0	3	86.60	419.93	15.14	21.51
Moyenne	29.40	30.06	0	0.85	62.77	106.76	12.39	12.76
Ecart- type	17.49	15.66	0	0.93	126.36	110.71	4.25	3.58
Pr > F	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns

1.Variation des paramètres biochimiques :

1.1. Les anthocyanes:

Les anthocyanes sont des pigments qui absorbent les lumières intenses et les converti en chaleur ce qui facilite la croissance des végétaux.L'ffet antioxydant des anthocyanes est expliqué en partie par piégeage des radicaux libres.ce sont néanmoins les induisent la synthèse des anthocyanes (lois,1994).

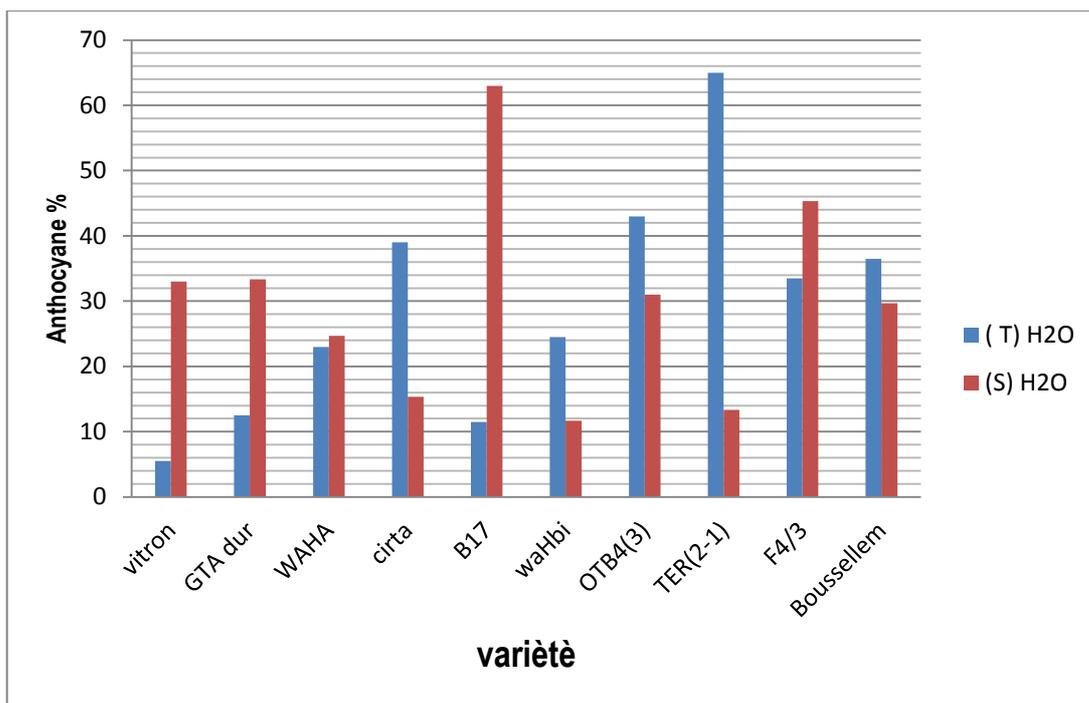


Fig17: la teneur des anthocyanes chez les dix varietes de blé dur

La teneur en anthocyanes varie d’une variété à une autre .cependant, on note une augmentation de la teneur en anthocyanes chez la variété TER(2-1) avec une valeur maximale (65%) et la varieté OTB4(3) avec une valeur minimale (43%) et une moyenne (29.40) chez le témoins.

Par contre chez les génotypes stressés,on note une augmentation de la concentration chez la varieté B17 avec une valeur (63%),et une diminution chez la varieté Wahbi avec une valeur (11.66%) pour une moyenne (30.06)(fig:17)

Notre étude montre, aussi que la variété locale B17 a enregistré une accumulation importante d’enthocyanes cela pourrait être expliqué par la tolérance de cette dernière qui se manifeste par une forte teneur en molécules anti oxydantes , plusieurs recherches montrent que ces métabolites de base du système non enzymatique sont mises en place par la plante pour une détoxication en présence d’un stress (Eryilmaz, 2006) .

D’autres composés tels que les flavonoïdes,métabolites secondaires issus de la voie de biosynthèse des phénylpropanoïdes,ont également un important effet antioxydant la désactivation de l’oxygène singulet,qui est dû à leur structure phénolique(tournaire et al.,1993;benvo and georgiev,1994),le scavenging de H₂O₂ et OH.(gould et al.,2002).composés protègent également les plantes des radiation UV et dégradent les ROS générés par ces radiations (Shirley,1996).

Ces données trouvent leur confirmation dans le test de L’anova qui révèle des différences non significatives pour cette variable tab(6)

1.2.La bétaine:

La Glycine bétaine est l’osmoprotecteur le plus puissant du monde végétale.Elle augmente la pression osmotique dans la cellule végétale afin d’éviter la fuite de l’eau hors de la cellule aboutissant à sa mort. Elle permet la rétention ou la diffusion de l’eau et des oligo-éléments par la gestion de cette pression osmotique.

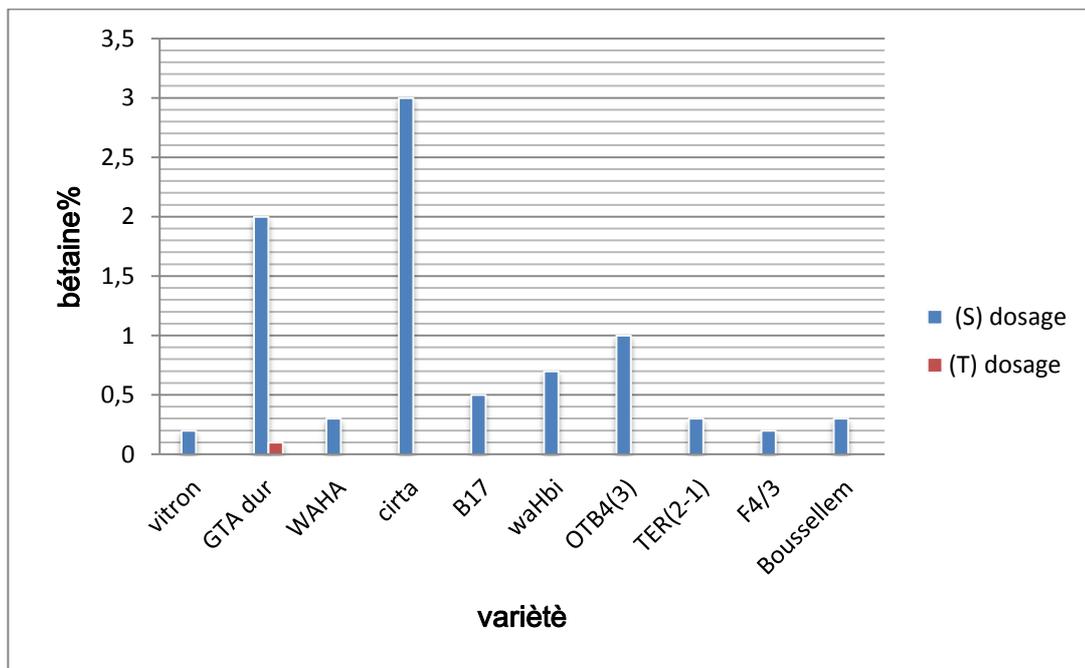


Fig18: La teneur de la glycine bétaine de dix géotypes du blé dur.

Nos résultats montre que la variété Cirta a marquer une varleur maximal (3%) par contre la valeur minimal est marquee par les variétés Vitron et Bousselem avec des valeurs respectives (0.3%-0.2%) avec une moyenne (0.85).Par a ports aux témoins qui rmarque une absence totale de bétaine (fig:18).

Ces données trouvent leur confirmation dans le test de L’anova qui révèle des différences non significatives pour cette variable tab(7).

Notre étude montre, que la variété locale Cirta a enregistré une accumulation importante de glycine bétaine.

L’accumulation de bétaine pourrait contribuer à Osmoregulation dans des accumulateurs naturels;cependant, osmoprotection semble être responsable de la tolérance aux stress abiotiques chez les plantes transgéniques. Un travail important sur glycine bétaine a suggéré ses rôles variés dans les plantes. De nouvelles preuves suggèrent que la contribution de l’expression différentielle des gènes endogènes dans glycine bétaine médiée tolérance au stress chez les plantes. Des travaux

supplémentaires de déterminer si les modifications du transcriptome sont des cibles directes de glycine bétaine ou sont produit d'ajustement métabolique dans les plantes transgéniques.

2.les paramètres physiologiques:

1.2 L'intégrité membranaire:

Ces données trouvent leur confirmation dans le test de l'ANOVA qui révèle des différences non significatives pour cette variable tab(8)

Le pourcentage d'intégrité cellulaire consiste en une mesure de la libération des électrolytes suite à la destruction partielle des membranes cytoplasmiques par rapport à laquantité totale d'électrolytes la perte relative d'électrolytes est un test couramment utilisé pour évaluer les dommages causés par les différentes contraintes sur les cellules.

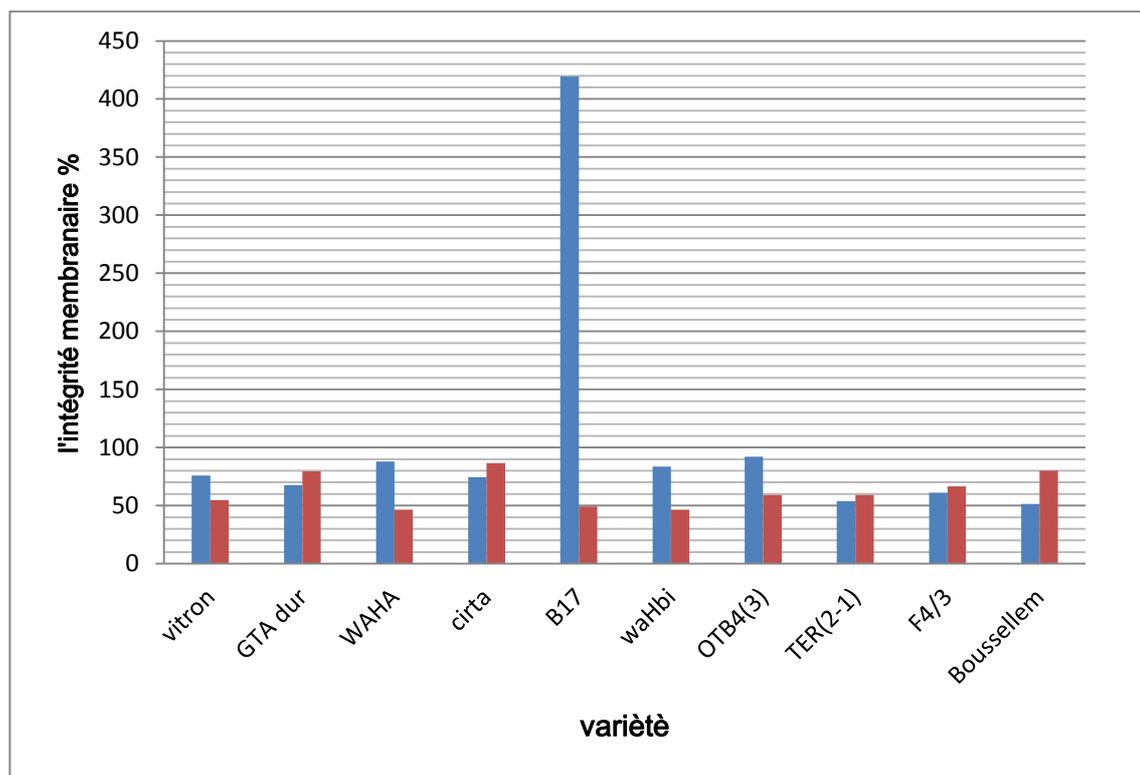


Fig19 :La tenue de l'intégrité membranaire des dix génotypes de blé dur.

la figure(19) montre que les témoins présente un pourcentage de stabilité assez élevé qui varie de (86.60%) dans la variété Cirta et un faible pourcentage de(46.57%) dans la variété Wahbi avec une moyenne(62.77%).

Par contre , chez les stressés la variété B17 marque un grande pourcentage de (419.43%) et la variété Boussellem marque le faible pourcentage de (51.49%) avec une moyenne (106.76%).(fig:19)

Les résultats obtenus montrent que les feuilles gardent une intégrité structurale importante malgré la présence de sel qui provoque une sécheresse physiologique. Cette aptitude de maintenir l'intégrité de ses membranes semble être associée à des mécanismes d'évitement de la contrainte saline. En effet, il a été observé, chez beaucoup de plantes, une désorganisation de l'ultra structure des parois provoquée par le stress (BLUM, 1981). Ces altérations peuvent résulter de destructions mécaniques par plasmolyse

Notre étude montre, que la variété locale B17 a enregistré une accumulation importante de glycine bétaine.

2.2. Taux de chlorophylle:

La Chlorophylle est le principale pigment assimilateur des végétaux photosynthétique .Ce pigment situé dans les chloroplasts des cellules végétales intervient dans la photosynthèse pour intercepter l'énergie lumineuse, première étape dans la conversion de cette énergie en énergie chimique.

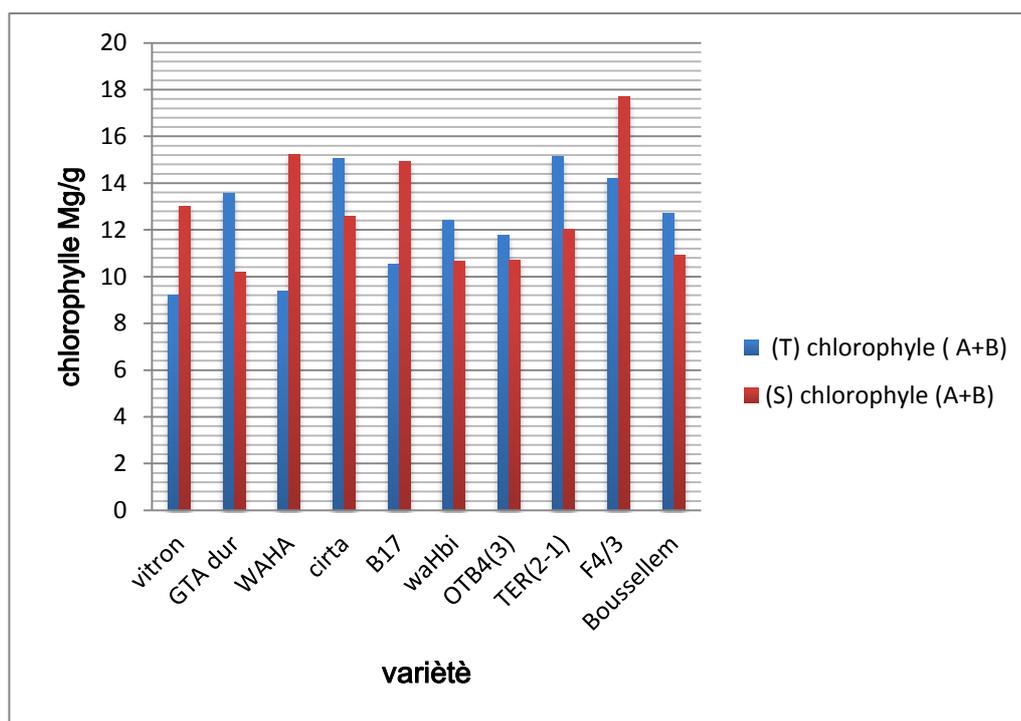


Fig20: La tenue de chlorophylle de dix variétés du blé dur

les variations de taux de chlorophylle sont présentées par les histogrammes de la figure (20) ces résultats montrent que la variété Ter(2-1) marque le grand valeur (15.14%),mais la variété Vitron marquee le faible valeur (9.2%),ca pour les témoins por une moyenne (12.39%) .(Fig:20)Pour les

stressés, la variété F4/3 marque une supérieure valeur (17.72%) par contre l'inférieure valeur (10.19%) marquée par la variété Gat dur pour une moyenne (12.76%). (fig:20)

Ces données trouvent leur confirmation dans le test de l'ANOVA qui révèle des différences non significatives pour cette variable tab(9).

La chlorophylle est un pigment végétal responsable de la coloration verte des plantes. Ce pigment, que l'on retrouve dans les cellules des végétaux, est utilisé avec d'autres pigments par les plantes pour effectuer la photosynthèse. ce processus permet à la plante d'utiliser l'énergie du soleil pour convertir le dioxyde de carbone (CO₂) et l'eau en oxygène et en matière organique la teneur en chlorophylle est considérée comme paramètre de tolérance au stress abiotique (salinité, sécheresse) chez plusieurs espèces (Srivastava et al.,1988).

Dans notre travail on remarque que le stress hydrique affecte significativement ce paramètre par la diminution du taux de chlorophylle avec l'intensité du stress.

Lors d'un stress hydrique, une diminution de la teneur en chlorophylle est remarquée chez le blé dur (Bousba et al., 2009). Pour limiter les pertes en eau par évaporation et aussi l'augmentation de la résistance à l'entrée du CO₂ atmosphérique nécessaire à la photosynthèse, l'économie de l'eau se traduit par une turgescence relative moins affectée par le stress conduisant à une dilution de la chlorophylle (Slayter ,1974).

3- Discussion

L'amélioration génétique du blé dur des zones sèches reste basée sur la recherche une meilleure tolérance aux stress abiotiques pour adapter la plante , à la variabilité du milieu de production .

La plupart des travaux effectués sur le blé dur dans le cadre de l'amélioration génétique de la tolérance au stress hydrique , se sont donnés pendant longtemps pour objectif primordial, l'augmentation de la productivité par une approche basée sur les performances agronomiques.

Actuellement, les programmes d'amélioration du blé exigent d'étudier, d'identifier et de vérifier les caractères phénologiques, morpho-physiologiques et biochimiques liés au rendement en condition au stress abiotique.

La réponse des plantes aux variations de stress hydrique, varie selon le type de stress et les caractéristiques de la plante.

Notre étude pour l'objectif de faire des analyses biochimiques traitait bien puisce sur les variétés, aussi que la variété locale B17a enregistré une Accumulation importante d'anthocyanes cela pourrait être expliqué par la tolérance de cette dernière qui se manifeste par une forte

teneur en molécules anti oxydantes, plusieurs recherches montrent que ces métabolites de base du système non enzymatique sont mises en place par la plante pour une détoxification en présence d'un stress (Eryilmaz, 2006).

L'effet antioxydant des anthocyanes est expliqué en partie par piégeage des radicaux libres. ce sont néanmoins les induisent la synthèse des anthocyanes (Lois, 1994).

La Glycine bétaine accumule dans une variété d'organismes sous contraintes abiotiques et a été étudié dans de grands détails. (Bohnert, Jensen 1996) plantes connues pour accumuler la glycine bétaine naturellement ont été signalés pour bien grandir dans la sécheresse et une solution saline environnement. (Chen, Murata 2008). Et ce là présenté par la variété Cirta qui est le plus résistante par rapport aux autres génotypes.

L'étude physiologique montre que le stress appliqué a provoqué une réduction de la stabilité membranaire, cette réduction est plus importante chez les feuilles fortement stressées. Cependant, la résistance stomatique augmente avec l'intensité du stress. Et ce là présenté par la variété B17 qui est plus tolérante.

La teneur en chlorophylle est considérée comme paramètre de tolérance au stress abiotique on remarque que le stress hydrique affecte significativement ce paramètre par la diminution du taux de chlorophylle avec l'intensité du stress. Et ce là présenté par la variété F4/3.

Conclusion

L'amélioration génétique du blé dur des zones sèches reste basée sur la recherche d'une meilleure tolérance aux stress abiotiques pour adapter la plante, à la variabilité du milieu de production.

La plupart des travaux effectués sur le blé dur dans le cadre de l'amélioration génétique de la tolérance au stress hydrique, se sont donnés pendant longtemps pour objectif primordial l'augmentation de la productivité par une approche basée sur les performances agronomiques. Actuellement, les programmes d'amélioration du blé exigent d'étudier, d'identifier et de vérifier les caractères phénologiques, morpho-physiologiques et biochimiques liés au rendement en condition au stress abiotique.

Les travaux effectués dans cette étude ont porté sur l'adaptation de dix variétés de blé dur (locales et introduites), au stress hydrique appliqué au stade montaison.

Le stress hydrique provoque une augmentation très importante en anthocyanes au niveau des feuilles de la variété B17 qui sa tolérance se manifeste par une forte teneur en molécules antioxydantes. Glycine bétaine pourrait être impliquée dans l'inhibition de l'accumulation ERO, la protection des mécanismes photosynthétiques, l'activation de certains gènes liés au stress et à la protection de la membrane. Glycine bétaine a également été impliquée dans la protection de la structure quaternaire des protéines (ce qui maintient l'activité enzymatique) des effets des stress environnementaux endommager.

Ces critères morphologiques sont associés à des changements au niveau de la membrane cytoplasmique des feuilles. L'étude physiologique montre que le stress appliqué a provoqué une réduction de la teneur relative en eau et de la stabilité membranaire.

La teneur en chlorophylle est considérée comme paramètre de tolérance au stress abiotique on remarque que le stress hydrique affecte significativement ce paramètre par la diminution du taux de chlorophylle avec l'intensité du stress.

En conclusion, pour mener à bien cette étude, il serait intéressant d'élargir l'investigation à d'autres méthodes d'analyse et aux autres marqueurs de stress oxydatif (dosage des anthocyanes, dosage de glycine bétaine, l'intégrité membranaire, chlorophylle,.....).

RÉFÉRENCE

RÉFÉRENCE

1. Bohnert HJ, Jensen RG. Stratégies pour l'ingénierie de l'eau-tolérance au stress chez les plantes. Trends Biotechnol. 1996; 14 : 89-97. doi:. 10.1016 / 0167 à 7799 (96) 80929-2 [[Renvoi](#)]
2. . Chen TH, Murata N. Amélioration de la tolérance au stress abiotique par génie métabolique de bétaines et d' autres solutés compatibles. Curr Opin usine Biol. 2002; 5 : 250-7. doi:. 10.1016 / S1369-5266 (02) 00255-8 [[PubMed](#)] [[Renvoi](#)]
3. . Chen TH, Murata N. Glycinebetaine: un protecteur efficace contre le stress abiotique chez les plantes.Trends Plant Sci. 2008; 13 : 499-505. doi:. 10.1016 / j.tplants.2008.06.007 [[PubMed](#)] [[Renvoi](#)]
4. . Holmström KO, Somersalo S, Mandal A, Palva TE, Welin B. Amélioration de la tolérance à la salinité et à faible température transgénique produisant du tabac glycine bétaine. J Exp Bot. 2000; 51 : 177-85. doi:. 10.1093 / jexbot / 51.343.177 [[PubMed](#)] [[Renvoi](#)]
5. . Kishitani S, T Takanami, Suzuki M, M Oikawa, S Yokoi, M ISHITANI et al. Compatibilité des glycinebetaine dans des plants de riz: évaluation en utilisant des plants de riz transgéniques avec un gène pour peroxysomes bétaine aldéhyde déshydrogénase à partir d' orge. Plant Cell Environ. 2000; 23 : 107-14.doi:. 10,1046 / j.1365-3040.2000.00527.x [[Renvoi](#)]
6. . Luo D, Niu X, Wang Y, Zheng W, Chang L, Wang Q, et al. Défaut de fonctionnement à la choline de riz monooxygénase locus d'un traitement post-transcriptionnelle inhabituel est associé aux éléments de séquence de répétitions courtes direct. New Phytol. 2007; 175 : 439-47. doi:. 10.1111 / j.1469-8137.2007.02124.x[[PubMed](#)] [[Renvoi](#)]
7. . Parc EJ, Jeknic Z, Chen TH. L' application exogène des augmentations de glycinebetaine chilling latolérance dans les plants de tomates. Plant Cell Physiol de. 2006; 47 : 706-14. doi:. 10.1093 / pcp / pcj041[[PubMed](#)] [[Renvoi](#)]
8. . Pasquali G, Biricolto S, F Locatelli, Baldoni E, Mattana M. Osmyb4 expression améliore les mesures d'adaptation à la sécheresse et le stress froid dans les pommes transgéniques. Plant Cell Rep. 2008; 27 : 1677-86. doi:. 10.1007 / s00299-008-0587-9 [[PubMed](#)] [[Renvoi](#)]

9. . Shirasawa K, Takabe T, Kishitani S. Accumulation de glycinebetaine dans des plants de riz qui surexpriment monooxygénase choline des épinards et à l' évaluation de leur tolérance au stress abiotique. *Ann Bot.* 2006; 98 : 565-71. doi:. 10.1093 / aob / mcl126 [[Article PMC gratuit](#)] [[PubMed](#)] [[Renvoi](#)]
10. 2- Kevin M. Davies, « Modifying Anthocyanin Production in Flower », in K. Gould et al. "ANTHOCYANINS Biosynthesis, Functions and Applications", Springer, 2009
11. 3- P. Sarni-Manchado, V. Cheynier, Les polyphénols en agroalimentaire, Lavoisier, Editions Tec & Doc, 2006, 398 p. (ISBN 2-7430-0805-9)
12. anthocyanin content in higher plants .biotechnol and biothechnol Eq:
13. anthocyanin content in higher plants .biotechnol and biothechnol Eq : 47.
14. Araceli Castaneda-Ovando, Ma. de Lourdes Pacheco-Hernandez, Ma. Elena Paez-Hernandez, Jose A. Rodriguez, Carlos Andres Galan-Vidal, « Chemical studies of anthocyanins: A review », *Food Chemistry*, vol. 113, 2009, p. 859-871
15. Atkinson W. et al., 2009. Dietary and supplementary betaine: effects on betaine and homocysteine concentrations in males. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.*, 16(1), 1-7.
16. Auzély-Velty R. & Rinaudo M., 2003. Synthesis of starch derivatives with labile cationic groups. *Int. J. Biol. Macromol.*, 31, 123-129.
17. Banu M.N.A. et al., 2009. Proline and glycine betaine induce antioxidant defense gene expression and suppress cell death in cultured tobacco cells under salt stress. *J. Plant Physiol.*, 166(2), 146-156.
18. Basheva E.S. et al., 2000. Role of betaine as foam booster in the presence of silicone oil drops. *Langmuir*, 16(3), 1000-1013.
19. Berchel M. et al., 2008. Synthesis of unsymmetrical saturated or diacetylenic cationic bolaamphiphiles. *Tetrahedron Lett.*, 49(52), 7419-7422.
20. Bruneton, J., *Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales*, 4e éd., revue et augmentée, Paris, Tec & Doc - Éditions médicales internationales, 2009, 1288 p. (ISBN 978- 2-7430-1188-8)
21. -Catherine Felgines, Séverine Talavéra, Marie-Paule Gonthier, Odile Texier, Augustin Scalbert, Jean-Louis Lamaison et Christian Rémésy, « Strawberry Anthocyanins Are Recovered in Urine as Glucuroand Sulfoconjugates in Humans », *The J. of Nutrition*, vol. 133, no 5, 2003, p. 1296-1301
22. Chen TH, Murata N. Amélioration de la tolérance au stress abiotique par génie métabolique de bétaines et d' autres solutés compatibles. *Curr Opin usine Biol.* 2002; 5 : 250-7. doi:. 10.1016 / S1369-5266 (02) 00255-8 [[PubMed](#)] [[Renvoi](#)]

23. Chen TH, Murata N. Glycinebetaine protège les plantes contre le stress abiotique: mécanismes et applications biotechnologiques. *Plant Cell Environ.* 2011; 34 : 1-20. doi.: 10.1111 / j.1365-3040.2010.02232.x [[PubMed](#)] [[Renvoi](#)]
24. Chen TH, Murata N. Glycinebetaine: un protecteur efficace contre le stress abiotique chez les plantes. *Trends Plant Sci.* 2008; 13 : 499-505. doi.: 10.1016 / j.tplants.2008.06.007 [[PubMed](#)] [[Renvoi](#)]
25. Chen Y., Liu Y. & Guo R., 2009. Aggregation behavior of amino acid-derive bolaamphiphile and conventional surfactant mixed system. *J. Colloid Interface Sci.*, 336(2), 766-772.
26. Christina Schallenberg, « There's a reason those maple leaves are red: Leaves produce powerful chemical », *Toronto Star*, vol. 22 octobre, 2005
27. Clifford M.N., « Anthocyanins – nature, occurrence and dietary burden », *J. Sci. Food Agric.*, vol. 80, 2000
28. Delgado C., Merchán M.D., Velázquez M.M. & Anaya J., 2006. Effect of surfactant structure on the adsorption of carboxybetaines at the air-water interface. *Colloids Surf. A*, 280(1-3), 17-22.
29. Dreux N, Albagnac C, Sleator RD, Colline C, Carlin F, Morris CE, et al. Glycine bétaine améliore *Listeria monocytogenes* tolérance à la dessiccation sur des feuilles de persil indépendant des transporteurs de osmolyte Betl Gbu et OpuC. *J Appl Microbiol.* 2008; 104 : 1221-7. doi.: 10.1111 / j.1365-2672.2007.03623.x [[PubMed](#)] [[Renvoi](#)]
30. Eryilmaz F (2006) The relationships between salt stress and
31. Eryilmaz F (2006) The relationships between salt stress and
32. Estrine B. et al., 2004. Nouvelle famille de composition à base de polyglycosides d'alkyle et de composés dérivés de la glycine bétaine ; utilisation comme agent tensioactif. Brevet FR n°04 04741 du 4 mai (ARD, ENSCR) ; WO 2005 121294.
33. Fischer P. & Wu H., 2008. Morphological transitions in dilute solutions of sugar-based zwitterionic dimer betaine surfactants. *Colloids Surf. A*, 326, 103-108.
34. Fitzgerald TL, Waters DL, Henry RJ. Bétaine aldéhyde déshydrogénase dans les plantes. *Plante Biol (Stuttg)* 2009; 11 : 119-30. doi.: 10.1111 / j.1438-8677.2008.00161.x [[PubMed](#)] [[Renvoi](#)]
35. Floch V. et al., 1998. New biocompatible cationic amphiphiles derivative from glycine betaine: a novel family of efficient nonviral gene transfer agents. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 251, 360-365.

36. Ghosh K.K., Pandey A. & Roy S., 2000. Micellar kinetics of hydrolysis of hydroxamic acids in zwitterionic sulfobetaine surfactants. *Colloids Surf., A*, 163, 293-300.
37. Gilot D. et al., 2002. Cationic lipids derived from glycine betaine promote efficient and nontoxic gene transfection in cultured hepatocytes. *J. Gene Med.*, 4, 415-427.
38. Gliozzi A., Relini A. & Chong P.L., 2002. Structure and permeability properties of biomimetic membranes of bolaform archaeal tetraether lipids. *J. Membr. Sci.*, 206(1-2), 131-147.
39. Granö H. et al., 2000. Preparation of starch betainate: a novel cationic starch derivative. *Carbohydr. Polym.*, 41(3), 277-283.
40. Guan J.Q., Li X.Y. & Tung C.H., 1997. Novel zwitterionic surfactants: synthesis and surface active properties of N-(3-alkoxy-2-hydroxypropyl)-N,N-dimethyl glycine betaines. *Chinese Chem. Lett.*, 8(6), 499-502.
41. Hall-Manning T.J. et al., 1998. Skin irritation potential of mixed surfactant systems. *Food Chem. Toxicol.*, 36(3), 233-238.
42. Hines J.D. et al., 1997. Neutron reflection from mixtures of sodium dodecyl sulfate and dodecyl betaine adsorbed at the hydrophobic solid/aqueous interface. *J. Colloid Interface Sci.*, 189, 259-267.
43. Holappa J. et al., 2006. Antimicrobial activity of chitosan N-betainates. *Carbohydr. Polym.*, 65, 114-118.
44. Huang J. et al., 2008. Manipulation of sinapine, choline and betaine accumulation in Arabidopsis seed: towards improving the nutritional value of the meal and enhancing the seedling performance under environmental stresses in oilseed crops. *Plant Physiol. Biochem.*, 46, 647-654.
45. Im S.H., Jeong Y.H. & Ryoo J.J., 2008. Simultaneous analysis of anionic, amphoteric, nonionic and cationic surfactant mixtures in shampoo and hair conditioner by RP-HPLC/ELSD and LC/MS. *Anal. Chim. Acta*, 619(1), 129-136.
46. Jack Sullivan, « Anthocyanin », *Carnivorous Plant Newsletter*, vol. 27, no 3, septembre 1998, p. 86-88 ([lire en ligne \[archive\]](#))
47. Kim S.K. & Kim Y.C., 2005. Effects of betaine supplementation on hepatic metabolism of sulfur-containing amino acids in mice. *J. Hepatol.*, 42, 907-913.
48. Koike R., Kitagawa F. & Otsuka K., 2007. Simultaneous determination of amphoteric surfactants in detergents by capillary electrophoresis with indirect UV detection. *J. Chromatogr. A.*, 1139, 136-142.

-
49. Korjamo T. et al., 2008. Effect of N-betainate and N-piperazine derivatives of chitosan on the paracellular transport of mannitol in Caco-2 cells. *Eur. J. Pharmacol. Sci.*, 35(3), 226-234.
50. Lever M., Atkinson W., George P.M. & Chambers S.T., 2007. An abnormal urinary excretion of glycine betaine may persist for years. *Clin. Biochem.*, 40, 798-801.
51. Li K.T. et al., 2008. Improved large-scale production of vitamin B12 by *Pseudomonas denitrificans* with betaine feeding. *Bioresour. Technol.*, 99, 8516-8520.
52. Li Y. et al., 2005. Studies on the interaction between tetradecyl dimethyl betaine and sodium carboxymethyl cellulose by DPD simulations. *Colloids Surf. A*, 257-258, 385-390.
53. Likes R. et al., 2007. The betaine and choline content of a whole wheat flour compared to other mill streams. *J. Cereal Sci.*, 46, 93-95.
54. Lundberg D., Ljusberg-Wahren H., Norlin A. & Holmberg K., 2004. Studies on dodecyl betainate in combination with its degradation products or with phosphatidyl choline-phase behavior and hemolytic activity. *J. Colloid Interface Sci.*, 278, 478-487.
55. MeSH database, « [Polyphenols](#) » [[archive](#)], sur ncbi.nlm.nih.gov (consulté le 27 décembre 2015)
56. Michaël Jourdes, Réactivité, synthèse, couleur et activité biologique d'ellagitannins c-glycosidiques et flavano-ellagitannins, thèse de chimie organique, Université de Bordeaux I, 2003
57. -Michaela C. Matuschek, T. Wouter H. Hendriks, Tony K. McGhie, Gordon W. Reynolds, « The jejunum is the main site of absorption for anthocyanins in mice », *Journal of Nutritional Biochemistry*, vol. 17, 2006, p. 31-36
58. Milbury PE, Vita JA et Blumberg JB., « Anthocyanins are bioavailable in humans following an acute dose of cranberry juice », *J. Nutr.*, vol. 140, 2010, p. 1099-104
59. Niu X, Zheng W, Lu BR, Ren G, Huang W, Wang S, et al. Un traitement post-transcriptionnelle inhabituel dans deux bétaine aldéhyde déshydrogénase (BADH) loci des cultures de céréales dirigées par des répétitions court directs en réponse aux conditions de stress. *Plant Physiol.* 2007; 143 : 1929-1942. doi: 10.1104 / pp.107.095752 [[Article PMC gratuit](#)] [[PubMed](#)] [[Renvoi](#)]
60. page-3.4
61. Parc EJ, Jeknic Z, Sakamoto A, DeNoma J, Yuwansiri R, Murata N, et al. Le génie génétique de la synthèse de la tomate glycinebetaine protège les graines, les plantes et

- les fleurs des dommages derefroidissement. *Plant J.* 2004; 40 : 474-87. doi: 10.1111 / j.1365-313X.2004.02237.x [[PubMed](#)] [[Renvoi](#)]
62. Reinhard Eder, "Pigments", in *Food Analysis by Hplc*, Leo M.L. Nollet (ed.), Marcel Dekker Inc, 2000, 1068 p.
63. -Rocío González-Barrio, Gina Borges, William Mullen et Alan Crozier, « Bioavailability of Anthocyanins and Ellagitannins Following Consumption of Raspberries by Healthy Humans and Subjects with an Ileostomy », *J. Agric. Food Chem.*, vol. 58, no 7, 2010, p. 3933-3939
64. Séverine Talavéra, Catherine Felgines, Odile Texier, Catherine Besson, Claudine Manach, Jean-Louis Lamaison, and Christian Rémésy, « Anthocyanins Are Efficiently Absorbed from the Small Intestine in Rats », *The J. of Nutrition*, vol. 134, no 9, 2004, p. 2275-2279
65. Taylor C. Wallace, « Anthocyanins in Cardiovascular Disease », *Adv. Nutr.*, vol. 2, no 1-7, 201
66. Timberlake C.F., Henry B.S., « Anthocyanins as natural food colorants », *Prog. Clin. Biol. Res.*, vol. 280, 1988, p. 107-121

ANNEXE

Annexe:1

Taxonomie et classification des *Triticum*(Feillet,2000)

Embranchement :	Spermaphytes
Sous Embranchement :	Angiospermes
Classe :	Monocotylédones
Ordre :	Poales
Familles :	Poaleae
Sous-famille :	Festucoideae
Tribu :	Triticeae
Genre :	<i>Triticum</i>
Espèce :	<u><i>Triticum durum</i> Desf.</u>

Annex :2

La solution Hcl à 2% :

Dans un ballon de jauge on dissout 2ml Hcl dans 100ml de l'eau distillé

Annexe :3

solution de sulfite de sodum 15% :

on dissout 5g de sulfite de sodum dans 100ml de l'eau distillé et on gard au réfrigérateur.

Annexe :4

Ethanol- Hcl 0.1% :

Dans un ballon de 250ml on dissout,1ml de l'Hcl dans un 100ml de l'eau distillé ,bien mélangé la solution .Après on ajoute 1ml de l'Ethanol.

Annexe :5

Tableau6: Analyse de la variance de les anthocyanes obtenu à partir de strsse hydrique appliqué aux dix variétés de blé dur.

A –Témoïn :

Source	DDL	SC	MC	F	Pr > F
Modèle	19	22076,0000	1161,8947	1,1347	0,6404
Erreur	1	1024,0000	1024,0000		
Total corrigé	20	23100,0000			

Variable	Observations	Obs. avec données manquantes	Obs. sans données manquantes	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
(T) H2O	20	0	20	1,0000	65,0000	29,4000	17,4911

B-Stressé :

Source	DDL	SC	MC	F	Pr > F
Modèle	29	4802,4012	165,6000	0,3579	0,8946
Erreur	1	462,6801	462,6801		
Total corrigé	30	5265,0813			

Variable	Observations	Obs. avec données manquantes	Obs. sans données manquantes	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
(S) H2O	30	0	30	10,0000	69,0000	30,0667	15,6644

Tableau7: Analyse de la variance de la glycine bétaine obtenu à partir de strsse hydrique appliqué aux dix variétés de blé dur.

Stressé :

Source	DDL	SC	MC	F	Pr > F
Modèle	9	14,6000	1,6222	3,3107	0,4040
Erreur	1	0,4900	0,4900		
Total corrigé	10	15,0900			

Variable	Observations	Obs. avec données manquantes	Obs. sans données manquantes	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
(S) dosage	10	0	10	0,2	3	0,85	0,9348

Tableau8: Analyse de la variance de l'intégrité membranaire obtenu à partir de strsse hydrique appliqué aux dix variétés de blé dur.

Stressé :

Source	DDL	SC	MC	F	Pr > F
Modèle	9	217297,7824	24144,1980	3,4477	0,3967
Erreur	1	7002,9003	7002,9003		
Total corrigé	10	224300,6827			

Variable	Observations	Obs. avec données manquantes	Obs. sans données manquantes	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
S%	10	0	10	51,4933	419,4367	106,7630	110,7135

Tableau9: Analyse de la variance de chlorophylle (A+B) obtenu à partir de strsse hydrique appliqué aux dix variétés de blé dur.

Stressé :

Source	DDL	SC	MC	F	Pr > F
Modèle	29	4802,4012	165,6000	0,3579	0,8946
Erreur	1	462,6801	462,6801		
Total corrigé	30	5265,0813			

Variable	Observations	Obs. avec données manquantes	Obs. sans données manquantes	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
A+B	30	0	30	7,2700	21,5100	12,7690	3,5895

Nom & prénom: Kara Safia
Zerguine Manel

Date de soutenance : 12/06/2016

Dosage des anthocyanes et de la glycine bétaine en conditions de stress hydrique et étude des mécanismes de tolérances chez dix variétés du blé dur (*triticum durum* Desf.)

Nature du diplôme: Master en Biologie et Physiologie Végétales

Résumé :

Le blé dur est considéré comme une culture stratégique en Algérie. Toutefois, la croissance de cette culture et l'amélioration de son rendement sont limités par le manque d'eau et la température irrégulière.

Notre étude s'intègre dans le cadre d'une recherche multidisciplinaire qui vise le comportement de dix génotypes de blé dur à été étudié sous serre: Vitron, GTA, Waha, Cirta, Bidi, Wahbi, OTB4, Ter1-3, F4, Bousselem, sous l'effet du stress hydrique.

Dans la phase montaison on a effectué plusieurs mesures: le dosage des anthocyanes et dosage de la glycine bétaine, le taux de chlorophylle, en utilisant le spectrophotomètre, et l'intégrité membranaire par le conductivimètre.

Nos résultats montrent que la tolérance du blé dur aux contraintes hydriques en fait plusieurs mécanismes de protection déployés par les plantes proportionnelles à la gravité du stress; et cela est par les variétés. En outre, il s'est résulté que les dix variétés suivent les mêmes stratégies de résistance aux différentes contraintes abiotiques et les variétés les plus tolérantes **B17, Cirta et F4/3**.

Mots clés: blé dur, stress hydrique, les anthocyanes, la glycine bétaine, chlorophylle, l'intégrité membranaire.

Laboratoire de recherche: Laboratoire de Nutrition Minérale des Végétaux.

Membres de jury : Président du jury : MCB . Chaib Ghania
Rapporteur : MAA . Bouchareb Radia
Examineurs : MAA . Oubrahim