



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث 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 والحياة

Département : Biologie et Ecologie Végétale

قسم : البيولوجيا و الايكولوجيا النباتية.

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie et Génomique Végétale

Intitulé :

***Effet du stress abiotique sur l'accumulation des protéines
totales chez deux variétés de blé dur***

(Triticum durum Desf.)

Présenté et soutenu par : Mlle. AMROUCHE Imène

Le : 15/06/2017

Mlle.MESBAH El-kahina akila

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mme. BOUSBA Ratiba (MCA-UFM Constantine).

Rapporteur : Pr. YKHLEF Nadia (Professeur UFM Constantine).

Examineurs : MOUELLEF Adra (UFM Constantine).

***Année universitaire
2016 - 2017***

« Certes, il y'a des travaux pénibles ;
mais la joie de la réussite compense
toujours nos douleurs »

Jean de la bruyère

Remerciements

Tous d'abord, louange à **DIEU** le clément le miséricorde de nous avoir guidé et donné le courage et la volonté de poursuivre nos études.

Nous tenons aussi à remercier notre encadreur **Mme YKHELLEF Nadia**, professeur à l'université des frères Mentouri d'avoir eu la gentillesse et la patience pour son assistance tout au long de ce travail, de nous prodigé son aide, son encouragement continu et ses conseils afin que nous puissions terminer à bien notre travail.

Nous exprimons aussi toute notre gratitude au **Professeur DJEKOUN Abdelhamid**, responsable de l'équipe de Biotechnologie et Amélioration des Plantes, au laboratoire GBBV.

Aussi, tous nos remerciements vont également à **Mme BOUSBA Ratiba**, docteur à l'Université des frères Mentouri qui nous a fait l'honneur de présider le jury et pour ses précieux conseils et son aide morale durant le cycle de nos études de la Licence et du master.

Nous voudrions aussi remercier du fond du cœur **Mlle MOUELLEF Adra**, maître assistante à l'Université des frères Mentouri qui nous a fait l'honneur d'examiner notre travail et de nous avoir soutenues au cours de notre pratique, ses remarques constructives, ses conseils et encouragements.

Nous tenons à remercier également **Mr. BELBEKRI Nadir**, ingénieur de laboratoire, ainsi que **Mme BOULDEDJ Ryma** et **CHAFIKA** pour leur disponibilité.

Nous tenons aussi à remercier l'ensemble des enseignants de la spécialité «**BTGV**» pour avoir consacré leur temps et leur savoir-faire afin de nous faire bénéficier de la meilleure Formation.

Dédicaces

A mon père, l'homme d'exception, mon professeur pour toujours.

A ma mère, ma force et ma source de valeurs.

A ma grand-mère, que DIEU la garde et la prête en bonne santé et longue vie.

A ceux qui étaient toujours en ma compagnie, cheminant ensemble les divers domaines et les sentiers de la vie : Kaoutar et Hamza.

A mon beau-frère : Walid.

A la naissance de mon premier neveu : Adem, que DIEU le protège nchalah.

*A tous les membres de ma grande famille : **AMROUCHE** et **ZAIN**.*

A mes très chères copines Abir et Ines qui ont partagés avec moi les bons comme les mauvais moments de la vie, les douleurs comme l'espoir.

A celle qui m'a accompagné et qui était la source de ma confiance mon adorable amie et binôme : Kahina.

A toute la promotion BTGV "2017"

A toute personne chère à mon cœur et à tous ceux et toutes celles qui me connaissent et qui m'aime. A tous ceux-là, je dédie ce fruit de mes efforts.

Imène...

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

A la mémoire De mon adorable chère grand-mère que je dois tout. Que Dieu ait son âme dans son vaste paradis.

Aux deux êtres qui n'ont cessé de se Sacrifier pour que je réussisse :

A ma mère qui a œuvré pour ma réussite par son amour son soutien tout au long de mes études, pour ses précieux conseils, et sa bienveillance dans ma vie.

A mon père pour le soutien et l'aide qu'il m'apporte sans cesse, qui peut être fière de trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privation pour m'avancer dans la vie.

Que ce modeste travail, soit l'exaucement de vos vœux tant formulés et de Vos prières quotidiennes

A mes chères sœurs Ismahen (Nina) ; Dalinda ; et Aya ; à mon unique frère Djobrane

A toute la famille Mesbah et Bensouilah.

A ma copine, ma meilleur amie, ma sœur, Karima qui malgré la distance est restée toujours dans mon cœur merci pour ces meilleurs moments passer ensemble.

A tous les étudiants de la promotion 2016/20117

Option : Biotechnologie et génomique végétale

Je cite en particulier : Ma chère copine et binôme imène, pour sa patience envers mes crises sa gentillesse et sa compréhension, sache que tu peux toujours compter sur moi, merci pour cette belle amitié

En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des Moments agréables que nous avons passés ensemble.

Vous occupez tous une place particulière dans mon cœur. Je vous dédie ce travail en vous souhaitant un avenir radieux, plein de bonheur et de succès

Kahina...

Résumé :

Le blé dur est considéré comme une culture stratégique en Algérie caractérisée par un climat arides et semi-arides. Toute fois, la croissance de cette culture et l'amélioration de son rendement son limités par le manque d'eau, la température élevée et la salinité des sols ainsi que des eaux d'irrigation.

La compréhension des mécanismes moléculaires de tolérance au stress chez le blé, demeure primordiale afin de pallier aux effets néfastes du stress, les stratégies adaptatives mises en place par cette céréale induisent des modifications dans les programmes transcriptionnels d'un assortiment de gènes conduisant à la synthèse de protéines dite protéines de stress par la technique d'électrophorèse SDS-PAGE.

L'études actuelles s'est fixée comme objectif, de réaliser une étude comparative du comportement de deux variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf) qui sont Waha et Bousselem, en réponse à un stress sévère pendant 4h, tout en ajoutant 200mM de NaCl pour un stress salin, 20% de PEG pour le stress hydrique, et une température de 45° pour un stress thermique ces dernies sont appliqués au stade trois feuilles début de l'apparition de la quatrième feuille, cette comparaison est établie au niveau physiologique et biochimique, en se focalisant sur le profil d'expression des gènes de réponse au stress.

Les résultats obtenus ont montrés que les trois stress appliqués causent des changements dans les différents paramètres étudiés chez les deux génotypes, la sensibilité des deux variétés a été observée d'une manière variable d'un génotype à l'autre. En outre, il s'est résulté que les deux variétés mettent en place les mêmes mécanismes pour répondre au stress appliqués.

Mots clés : Blé dur, stress abiotique, PEG, NaCl, protéines de stress, SDS-PAGE

Summary:

Durum wheat is considered as a strategic culture in Algeria, characterized by an arid and semi-arid climate. However, the growth of this culture and the improvement of its performance are limited by water scarcity, high temperature and soil salinity as well as irrigation water.

The understanding of the molecular mechanisms of tolerance in the stress to the wheat, remains essential in order to mitigate the fatal effects of the stress, the adaptive strategies placed by this cereal induce changes in the transactional programs Of an assortment of genes leading to the synthesis of proteins called proteins of stress by the technique of electrophoresis SDS-PAGE.

Current studies set as goal, to realize a comparative study of the behavior of two varieties of durum wheat (*Triticum durum* Desf) which are Waha and Bousselem, in answer to a severe stress during 4 hours, while adding 200mM of NaCl for a salinity stress, 20 % of PEG for the hydric stress, and a temperature of 45 ° for a thermal stress, these letters are applied in the 3rd stage leaf at the beginning of the appearance of the fourth leaf , this comparison is established at the physiological and biochemical level, by focusing on the profile of expression of the genes of answer to the stress.

The obtained results showed that three applied stress cause changes in the various parameters studied to both genotypes, the sensibility of both varieties was observed in a variable way from a genotype to another. Besides, it was resulted that both varieties set up the same mechanisms to answer to the stress applied.

Keywords: Durum wheat, Abiotic stress, PEG, NaCl, Stress proteins, SDS-PAGE

ملخص:

يعتبر القمح القاسي محصولا استراتيجيا في الجزائر التي تتميز بمناخ جاف وشبه جاف. حيث ان نمو هذه الحبوب وتحسين أدائها محدودة بسبب نقص المياه, الارتفاع في درجة الحرارة وملوحة التربة ومياه الري. فهم الآليات الجزيئية لتحمل الظروف السيئة في القمح, لا تزال قصوى للتخفيف من الآثار الضارة الناجمة عن هذه الظروف, ان استراتيجيات التكيف التي تستخدمها هذه الحبوب تحدث تغييرات في برامج النسخي من تكلمة الجينات المؤدية إلى تركيب بما يسمى بالبروتينات الإجهاد بواسطة تقنية SDS-PAGE.

حددت الدراسة الحالية هدفا لإجراء دراسة مقارنة للسلوك نوعين من القمح القاسي: waha و Bousselem ردا على ضغوط شديدة لمدة 4 ساعات مع إضافة 200 ملي كلوريد الصوديوم للإجهاد الملحي, و 20% PEG لندرة المياه, ودرجة حرارة 45 درجة للإجهاد الحراري. يطبق هذا الإجهاد على الأوراق الثالثة بداية ظهور الورقة الرابعة, يتم إجراء هذه المقارنة على مستوى الفسيولوجية والبيوكيميائية, مع التركيز على التعبير عن جينات الاستجابة للضغط البيئي.

أظهرت النتائج أن ثلاثة تطبيقات سبب التغييرات التوتر في معلمات درس في كل من المورثات, لوحظ حساسية كلا أصناف بطريقة مختلفة من النمط الجيني لآخر. وبالإضافة إلى ذلك, أدى ذلك إلى أن النوعين ينفذون نفس الآليات للرد على الإجهاد المطبق.

كلمات البحث: القمح القاسي, الإجهاد البيئي, PEG, NaCl, بروتينات الإجهاد, SDS-PAGE

Liste des abréviations

ABA : Acide abscissique.

APS: Persulfate d'ammonium.

AQP: Aquaporines.

BD: Solution nutritive de *Broughton et Dillworth*.

CE: Conductivité Electrique.

DHN: Dèhydrines

H : Stress hydrique.

HSP: Protéine de choc thermique.

KDa: Kilodalton.

LEA: Protèine Late Embryogenesis Abundant.

N : Nuit.

NaCl : Chlorure de sodium.

NaOCl: Hypochlorite de sodium.

PEG: Polyéthylène glycol.

PF: Poids frais.

PS: Poids sec.

PT: Poids à la turgescence.

Qsp : quantité suffisante pour.

rpm: rotation par minute.

Rs: Résistance Stomatique.

S: Stress salin.

SDS-PAGE: Sodium Dodecyl Sulfate polyacrylamide gel electrophoresis

TCA: Acide Trichloracétique.

Tf : Température Foliaire.

Th: Stress thermique

TRE: Teneur Relative en Eau.

Tris : tris-hydroxyméthyl-aminométhane.

Liste des figures

Figure 1 : La fermeture des stomates	22
Figure 2: Illustration des mécanismes de tolérance à la salinité	24
Figure 3: Origine génétique du blé dur.....	25
Figure 4: Dispositif de pré-germination des graines des deux variétés étudiées	30
Figure 5: Culture Hydroponique des graines pré-germées dans la chambre de culture.....	31
Figure 6: Application du stress.....	32
Figure 7: Dispositif de l'essai du stress thermique.....	33
Figure 8: Mesure de l'intégrité membranaire par un conductimètre.....	35
Figure 9: Mesure de la température foliaire par le thermomètre infrarouge portable.....	35
Figure 10: Mesure de la résistance stomatique par le poromètre.....	36
Figure 11: La migration des protéines totales sur gel d'acrylamide.....	38
Figure 12: Variation de la teneur relative en eau(%) des deux variétés de blé dur étudiées soumissent aux trois traitements de stress abiotique (Th,H,S) pendant 4h.....	40
Figure 13 : Variation de l'intégrité membranaire(%) des deux variétés de blé dur étudiées soumissent aux trois traitements de stress abiotique (Th,H,S) pendant 4h.....	46
Figure14 : Variation de la température foliaire (°C) des deux variétés de blé dur étudiées soumissent aux trois traitements de stress abiotique (Th,H,S) pendant 4h.	50
Figure 15: Variation de la résistance stomatique (s/cm) des deux variétés de blé dur étudiées soumissent aux trois traitements de stress abiotique (Th,H,S) pendant 4h.....	54
Figure 16: Etude du Profil électrophorétique SDS-PAGE des protéines totales des feuilles de deux variétés de blé dur.	57

Liste des tableaux

Tableau.1: Classification botanique du blé dur.....	26
Tableau.2: Le marché mondial du blé.	27
Tableau 3: Les caractéristiques agronomiques morphologiques, culturales et qualitatives des deux variétés expérimentées	29
Tableau.4: L'annova TRE obtenues à partir des trois stress abiotiques appliqués aux deux variétés de blé dur.....	41
Tableau.5: Comparaison des moyennes des différents traitements de la TRE	41
Tableau.6: Classement des traitements sous trois groupes non significativement différents pour la teneur relative en eau.	42
Tableau.7: Comparaison des trois traitements appliqués avec le témoin pour la teneur relative en eau.	42
Tableau.8: Comparaison des deux variétés étudiées pour la teneur relative en eau.....	42
Tableau.9: Classement des variétés sous deux groupes non significativement différents pour la teneur relative en eau.	42
Tableau.10: Comparaison des moyennes de l'intégrité membranaire obtenues à partir des trois stress abiotiques appliqués aux deux variétés de blé dur.	46
Tableau.11: Comparaison des différents traitements de l'intégrité membranaire.....	47
Tableau.12: Classement des traitements sous trois groupes non significativement différents pour l'intégrité membranaire.....	47
Tableau.13: Comparaison des trois traitements appliqués avec le témoin pour l'intégrité membranaire.	48
Tableau.14: Comparaison des deux variétés étudiées pour l'intégrité membranaire.	48
Tableau.15: Classement des variétés sous deux groupes non significativement différents pour l'intégrité membranaire.	48
Tableau.16: Comparaison des moyennes de la température foliaire obtenues à partir des trois stress abiotiques appliqués aux deux variétés de blé dur.	51
Tableau .17 : Comparaison des différents traitements de la température foliaire.....	51
Tableau.18: Classement des traitements chez les deux variétés pour la température foliaire	
Tableau.19: Classement des variétés sous deux groupes non significativement différents pour la température foliaire.	52
Tableau.20 : Comparaison des moyennes de résistance stomatique obtenues à partir des trois traitements de stressa biotique appliqués aux deux variétés de blé dur.	54
Tableau.21: Comparaison des différents traitements de la résistance stomatique.....	55
Tableau.22: Classement des traitements chez les deux variétés pour la résistance stomatique	
Tableau.23: Comparaison des trois traitements appliqués avec le témoin.	55
Tableau.24: Classement des variétés sous deux groupes non significativement différents pour la résistance stomatique.	55
Tableau.25: récapitulatif du nombre de bandes révélés par électrophorèse SDS-PAGE des deux variétés de blé dur (waha et bousselem) sous trois stress appliqués (stress Th, stress S, stress H) pendant 4h.	58
Tableau.26: Diagramme présence/absence des bandes dans les feuilles des deux génotypes de blé dur étudiés soumis au différents stress abiotique (stress : Th, S et H).pendant4h.	60

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale

Chapitre I : Revue bibliographique

1) Expression des protéines sous conditions de stress environnemental.....	4
1.1 les heat shock proteins (HSP).....	4
1.2 Les aquaporine (AQP)	6
1.3 Les Dèhydrines (DHN)	7
2) Accumulation des osmolytes face aux stress abiotique.....	8
2.1 Le mannitol.....	9
2.2 Sucres et dérivés.....	9
2.3 La proline.....	9
2.4 La glycine bétaine.....	9
3) L'utilisation des gènes de tolérance au stress abiotique par les approches biotechnologique chez le blé.....	10
3.1 Marqueurs moléculaires	11
3.2 Génie génétique.....	11
3.3 L'haplodiploïdisation.....	12
4) Les stress abiotiques et leurs effets sur la plante	12
4.1 Notion de stress.....	12
4.2 Stress abiotique.....	13
4.3 Stress hydrique.....	13
4.4 Stress salin	14
4.5 Stress thermique	14
5) Les effets des stress abiotique sur le blé dur.....	15
5.1 Effet du stress hydrique.....	15
5.2 Effets du stress salin	17
5.3 Effets du stress thermique	18
6) Mécanismes d'adaptation du blé au stress abiotique	19
6.1 Mécanismes d'adaptation au stress hydrique chez le blé.	20
6.1.1 Adaptation phénologique « l'esquive / l'échappement»	20
6.1.2 Adaptation morphologique « l'évitement »	20
6.1.3 Adaptation physiologique « tolérance »	21
6.2 Mécanismes d'adaptation au stress salin chez le blé	23
6.2.1 Exclusion.....	23
6.2.2 Inclusion.....	23
6.3 Mécanismes d'adaptation au stress thermique chez le blé.	24

7) le blé dur (<i>Triticum durum</i>), répartition géographique et origine	25
7.1 Origine géographique et génétique du blé dur.....	25
7.1.1 Origine géographique.....	25
7.1.2 Origine génétique	25
7.2 Classification botanique et description morphologique du blé dur.....	26
7.3 Importance et production du blé dur	26
7.3.1 Dans le monde	26
7.3.2 En Algérie	27
7.3 Exigences climatiques du blé.....	28

Chapitre II : Matériel et méthodes

1) Matériel végétal	29
2) Mise en place de l'expérimentation	29
3) Conduite de l'essai et stade de mesure	29
4) Plan expérimental	30
4.1 Pré germination des graines.....	30
4.2 Germination des graines et mise en culture hydroponique	30
4.3 Répartition des plantules et stress appliqués.....	31
5) Les paramètres étudiés	33
5.1 Paramètres physiologique	33
5.1.1 Mesure de la teneur relative en eau (TRE)	33
5.1.2 Mesure de l'intégrité membranaire(CE)	34
5.1.3 Mesure de la température foliaire (Tf)	35
5.1.4 Mesure de la résistance stomatique (Rs)	35
5.2 Paramètre biochimique	36
5.2.1Extraction des protéines totales (SDS-PAGE)	36
6) Traitement des données et statistique	39

Chapitre III : Résultats et discussions

1) Analyse de la teneur relative en eau (TRE %)	40
2) Analyse de la conductivité électrolytique (CE %)	45
3) Analyse de la température foliaire (Tf °C)	50
4) Analyse de la résistance stomatique (RS. s/cm)	53
5) Analyse des protéines totales (SDS-PAGE)	57

Conclusion

Références bibliographiques

Liste des Annexe

Introduction

La majeure partie de l'alimentation est fournie par les aliments en grain, dont 96% sont produit par les cultures céréalières tels que le blé, l'orge, le riz, et le maïs ...etc. Les céréales constituent l'alimentation de base dans beaucoup de pays en développement, particulièrement dans les pays maghrébins, parmi ces céréales, le blé dur (*triticum durum desf*).

En effet, le blé dur occupe une place très privilégiée en fournissant plus de 60% de l'apport calorique et 15 à 20% de l'apport protéique, Son débouché principal c'est l'alimentation humaine (fabrication des semoules, couscous, pain et pates), le reste est utilisé pour l'alimentation animale (bétail) et l'industrie (amidon) (Zegrari ,2014).

La production des céréales en Algérie, avec le blé dur comme la première céréale cultivée et la plus ancienne, demeure le pivot de l'agriculture, c'est une filière stratégique et représente un poids considérable dans l'économie agricole, en raison de leur valeur nutritive pour les différentes couches de la population quel que soit leur niveau de vie.

Avant les années 1830 l'Algérie, exporte son blé au monde entier, actuellement durant les dix dernières années, à sept reprises, la production annuelle de cette céréale demeure très insuffisante pour satisfaire la demande en constante augmentation de ce produit de large consommation ,pour cela l'Algérie importe massivement son blé et se trouve dépendantes du marché international pour couvrir une partie de ses besoins, cette situation risque de se prolonger à plusieurs années, faute de rendements insuffisants et une forte évolution démographique.

Cette faiblesse de la production de blé en Algérie est souvent expliquée par l'influence des mauvaises conditions climatiques associées, notamment à la sécheresse, la température et la salinisation des sols qui se fait ressentir de manière très importante depuis la dernière décennie. En réalité, cette culture étant dépendante beaucoup plus de son environnement, ces conditions climatiques représentent les principaux facteurs limitant la croissance des plantes ainsi que la productivité des cultures céréalières par une perte partiel ou totale, du moment que 60% de la superficie réservée aux céréales se situe dans les zones arides et semi-arides qui se caractérisent par une forte irrégularité des précipitations et de fortes températures sur une grande partie de l'année ainsi qu'une terre salée. Plusieurs études ont montré que, face à un stress abiotique, les plantes étant un organisme sessile, adoptent des stratégies

d'acclimatation et de tolérance qui diffèrent en fonction de l'espèce et des conditions du milieu et qui font intervenir une large combinaison et de modification des facteurs morphologiques, physiologique, biochimique et moléculaire. Ces modifications sont régies par tout un assortiment de gènes, dont l'expression résulte en des changements dans les programmes transrationnels, conduisant à l'expression et la synthèse de nouvelles protéines (Bhargava et Sawant, 2013). Afin de réguler la croissance, le développement et la physiologie de la plante ainsi que leur rendement.

La connaissance et la compréhension de ces mécanismes demeure d'une grande importance, en ce qui concerne la recherche fondamentale mais aussi en tant que voie d'amélioration des plantes. Effectivement, ils constituent une perspective intéressante pour les améliorateurs, généticiens et biotechnologues (Ainaoui, 2016), pour contribuer à la gestion de l'impact du changement climatique, et sur le plan pratique pour le développement d'espèces agricoles tolérantes à la sécheresse (Bousbaa, 2012).

La plupart des travaux de recherche effectués sur le blé dur ont eu durant de nombreuses années pour objectif principal l'augmentation de la productivité. Ces dernières années, un intérêt plus croissant a été porté sur les études qui concernent l'amélioration génétique de la tolérance aux différents stress abiotique chez le blé.

Cette amélioration exige l'analyse de la plante en tant que système, dans son intégralité pour mieux comprendre la fonction biologique et les interactions des gènes exprimés dans certaines conditions de stress. Il est donc crucial d'étudier et d'analyser intensivement la variation d'expression sous l'effet de différents stress chez différents génotypes, cela permettrait de mettre en évidence des gènes ou des protéines candidates, dont la variation d'expression pourrait être la cause des variations phénotypiques entre génotypes analysés. Ces candidats peuvent ensuite être utilisés dans un programme d'amélioration (Hamla 2016).

Dans ce contexte l'objectif de ce présent travail consiste à analyser le comportement de deux variétés de blé dur soumises à un stress hydrique, thermique et salin au stade trois feuilles tout en effectuant une étude comparative de quelques mécanismes de tolérance relatifs aux effets de ces contraintes abiotiques.

Ce mémoire est structuré en trois grands chapitres :

- **Le chapitre I :** Représente une synthèse bibliographique qui se base sur le rôle des protéines et l'expression de gène en condition de stress abiotique ainsi que les mécanismes morphologique, physiologique et biochimique de tolérance face à ces contraintes et enfin des généralités sur le blé dur.

- **Le chapitre II :** englobe la description du matériel végétal, des conditions de culture et les paramètres d'analyse étudiés pour exploiter ce travail.

- **Le chapitre III :** fait l'objet de traitement et de présentation des résultats obtenus dans ce travail ainsi que leur discussion.

Le mémoire est achevé, par une conclusion et des perspectives, suivies de la liste de références bibliographiques et l'annexe.

Revue
bibliographique

1) **Expression des protéines sous conditions de stress environnemental :**

La nature immobile des plantes les a obligés à développer principalement des mécanismes moléculaires. L'analyse des gels d'électrophorèses montre que le stress hydrique induit la synthèse d'un assortiment de gènes pouvant être exprimé, les produits de ces gènes, exercent des fonctions dans la réponse et la tolérance des plantes au stress au niveau cellulaire. Effectivement, selon des analyses ainsi que (Yamaguchi et Shinozaki, 2007) ont réparti les produits des gènes induits en conditions de stress en deux groupes : une partie des protéines induites ont une fonction directe dans l'augmentation de la tolérance au stress (protéines fonctionnelles), d'autres ont une fonction dans la chaîne de transduction (protéines régulatrices) qui aboutiront à la production de protéines fonctionnelles.

La plupart des protéines à fonction directe sont les canaux à eau (aquaporines), les protéines LEA (déhydrines), et des enzymes catalysant la biosynthèse d'osmolytes (carbohydrates et acides aminés), tandis que les protéines régulatrices incluent les protéines kinases, phosphatases, les enzymes impliquées dans le métabolisme des phospholipides...

Les protéines de stress jouent un rôle primordial dans l'adaptation de la plante, et de ce fait, de nombreux chercheurs abordent la résistance au stress par l'isolement et l'étude de ces molécules (Kara et Zerguine, 2016).

1.1 Les heat shock proteins (HSP):

Pendant stress thermique, de nombreuses protéines subissent des modifications structurales et des changements fonctionnels. Il est par conséquent très important, pour la survie de la cellule soumise à un stress, de maintenir ces protéines dans une conformation fonctionnelle, d'éviter l'agrégation de protéines dénaturées et d'éliminer les polypeptides non fonctionnels et potentiellement dangereux, L'un des mécanismes cellulaires de défense contre cette atteinte à l'intégrité des protéines existe, en effet, la cellule réagit aux stress en activant l'expression de protéines spécialisées connues sous le nom de protéines de choc thermique, ou protéines de stress (les Hsp : heat shock proteins), Ces protéines assurent une protection lors d'un second stress et induisent ainsi une tolérance aux agressions qui suivent.

La synthèse et l'accumulation de ces protéines de stress est initialement découvertes lorsque les plantes subissent une augmentation graduelle de température plus typique de celle expérimentée dans un environnement naturel et à n'importe quel stade du développement, néanmoins, on les trouve également surexprimées lors de l'exposition des plants à la sécheresse, ou à des fortes teneurs en sel, (Wang et *al*, 2004 In Abdi et Zitouni, 2014).

Il est possible d'identifier les protéines du stress selon deux groupes :

- **Les HSP inductibles :**

L'analyse électro-phorétique des protéines synthétisées après un saut de température, identifie de nombreuses protéines induites. Pouvant être typiquement classées selon leurs poids moléculaire à savoir : Hsp60b, Hsp70 (DnaK), les Hsp90, les Hsp100 (Clp) et les protéines à faible poids moléculaire sHsp (small HSP) (Low Molecular Weight HSP: LMW HSP) dont la taille varie de 10 à 40 kDa. Les proportions des trois classes diffèrent au sein des espèces (Wirth et *al*, 2002).

Les Hsp70 vont empêcher la formation d'agrégats protéiques et permettent aux protéines de se replier pour adopter une conformation active. Elles sont aussi impliquées dans les transports protéiques, la transduction du signal et l'activation de la transcription. Une hypothèse est que la HSP70 empêche la dénaturation protéinique pendant le stress.

Les Hsp60 dont le rôle essentiel est de faciliter le repliement protéique, sont essentiellement chloroplastiques et mitochondriales, même si certaines formes se retrouvent dans le cytoplasme.

En plus du rôle de contrôle du repliement, les Hsp90 se distinguent en intervenant dans les réseaux de transduction du signal, le contrôle du cycle cellulaire, la dégradation des protéines et la destination des protéines.

Les LMW HSPs peuvent jouer un rôle structurel pour conserver l'intégrité de la membrane cellulaire pendant le stress. D'autres HSPs ont été associées à des organelles particulières telles que les chloroplastes, les ribosomes et les mitochondries.

- **Les HSP constitutives (chaperonnet) :**

Ce type de groupe représentent les homologues constitutifs des Hsp agissent dans la cellule non stressée. Notamment, La protéine Hsp70 qui appartient à une famille dont certains membres, telle Hsc70, sont constitutivement exprimés et non induits par le stress. Ces Hsp constitutives sont impliquées dans l'homéostasie cellulaire et agissent également comme chaperons de reformation protéique.

Le transport dans la mitochondrie fait intervenir un homologue constitutif de Hsp70 (Hsc70) qui a pour but de déplier et de rendre linéaires les polypeptides en question afin qu'ils puissent pénétrer dans cet organite. D'un point de vue physicochimique, Hsp70 et Hsc70 agissent de manière identique (Wirth et *al*, 2003).

La protéine Hsp90 est, quant à elle, caractérisée par un niveau d'expression élevé dans la cellule non stressée, En effet, Hsp90 est impliquée dans le transport cytoplasmique de précurseurs protéiques ou de récepteurs hormonaux ainsi que dans certains aspects de la transduction des signaux.

Les chaperonines Hsp60 et Hsp10 sont également caractérisées par un niveau élevé d'expression dans la cellule non stressée. Localisées dans la mitochondrie sous forme d'un complexe, ces protéines sont impliquées dans le transport des protéines mitochondriales codées par le noyau et synthétisées dans le cytoplasme.

La protéine Hsp27 et d'autres membres de la famille des Hsp de bas poids moléculaire ont la particularité d'être exprimés (en l'absence de stress) au cours du développement des organismes, ainsi qu'au cours des événements précoces de différenciation cellulaire. Ces Hsp participeraient à la protection des organismes en développement contre un hypothétique stress, et semblent nécessaires à la protection de la cellule contre une mort apoptotique.

Ce type de réponse a été décrit chez de nombreuses espèces appartenant à divers groupes taxonomiques importants : soja, maïs, riz, blé et autres céréales. Ainsi, la réponse des protéines de choc thermique peut être considérée comme un mécanisme universel de défense contre toute forme d'agression.

1.2 Les aquaporine AQP :

Les plantes se doivent de maintenir leur statut hydrique, tout au long de leur développement, même lorsque les conditions environnementales sont sévères.

L'un des symptômes les plus fréquents et précoces associés à ces conditions stressantes, est la perturbation de l'homéostasie d'eau, ce dernier est régulé par un groupe de protéines appelées « aquaporines » (Srivastava et al, 2016)

Les AQP constituent une petite famille de protéines, formant des canaux spécifiques, situés sur les membranes plasmiques ou vacuolaires, permettant initialement le transport de l'eau. Leur rôle dans divers processus physiologiques, a fasciné les scientifiques de plantes depuis plus d'une décennie, en particulier en ce qui concerne les contraintes abiotiques.

Par le fait que les AQP sont principalement impliqués dans le maintien de l'homéostasie de l'eau cellulaire, facilitant ainsi l'équilibre osmotique par le transfert bidirectionnel de l'eau à travers les membranes, elles permettent également une régulation du transport de l'eau entre différents types de cellules et organes afin d'optimiser son utilisation pendant le stress.

De plus en plus d'exemples de preuves dans diverses plantes cultivées indiquent que les AQP sont responsables de la régulation précise du mouvement de l'eau et par conséquent jouent un rôle crucial dans la tolérance à la sécheresse. Ces protéines membranaires peuvent non seulement réguler la conductivité hydraulique, mais aussi augmenter de 10 à 20 fois la perméabilité à l'eau des membranes. En dehors de l'eau, les AQP sont également connus pour le transport de petits solutés neutres (urée, acide borique) ou de gaz (ammonium, dioxyde de carbone).

Les AQP appartiennent à une large famille des protéines intra-membranaires les MIPs (Major Intrinsic Proteins) (Santos et Mazzafera, 2013). Chez les végétaux, elles ont été identifiées dans le tonoplaste, dans la membrane plasmique mais aussi dans des nodules fixateurs d'azote et dans le réticulum endoplasmique. En se basant sur leur homologie de séquence, elles peuvent être divisées en quatre classes (Almeida-Rodriguez et *al*, 2010).

Les deux plus importantes sont : les PIPs pour Plasmique Intrinsic Proteins et les TIPs pour Tonoplast Intrinsic Proteins ; La 3ème classe comporte les NIPs, Noduline26-Like Intrinsic Proteins, et la 4ème classe comprend, les SIPs, Small Intrinsic Proteins. (Srivastava et *al*, 2016) leur poids moléculaire peut aller de 25 jusqu'à 35 KDA.

Plus intéressant encore, les aquaporines peuvent intervenir dans la réponse des plantes à divers stress biotiques, en effet, les stimuli environnementaux incluant, la sécheresse et la salinité, peuvent réguler l'expression des PIPs et des TIPs au niveau des transcrits, Mais aussi au niveau protéique. Toutefois, la modulation de l'expression des gènes AQP en réponse à divers stress de déshydratation, appuie leur implication présumée dans la tolérance au stress hydrique et salin.

Il existe un besoin important d'explorer le potentiel d'AQP par la compréhension des mécanismes moléculaires et les voies par lesquelles ils induisent la tolérance à la sécheresse. Certains auteurs ont montré que la répression de gènes codant pour des AQP est associée à une diminution de la perméabilité à l'eau des membranes et contribuerait à la conservation cellulaire de l'eau pendant des périodes de contrainte hydrique et en 1997, Yamada et certains auteurs ont indiqué que des gènes codant pour des AQP sont exprimés pendant le stress hydrique et contribuent à une augmentation du flux de l'eau (Benkhelef, 2016).

1.3 Les Dèhydrines (DHN) :

Sont des protéines LEA D11 du groupe II (un sous-groupe des protéines LEA) qui sont les plus étudiées au cours d'un déficit hydrique. Ces protéines sont qualifiées de LEA « Late Embryogenesis-Abundant » en raison de leurs découvertes dans les graines des plantes matures (Rukey, 2010) mais aussi elles sont fortement exprimées dans les tissus des plantes en réponse à des facteurs de stress environnemental : stress hydrique (déshydratation), thermique et salin (Wong, 2009). Ces protéines sont découvertes initialement dans les graines de Cotton et du blé à la fin de l'embryogenèse et elles sont produites en abondance au cours du développement des graines, comprenant jusqu'à 4% des protéines cellulaires (Bhardwaj et *al*, 2013).

Les LEA sont des protéines en majorité très hydrophiles qui semblent impliquées dans la protection des structures cellulaires (Rukey, 2010), ce qui les rendent des protéines

potentiellement très importantes dans la vie des cellules. Ces protéines constituent une famille multigénique dont la majeure partie des protéines sont cytosoliques et hydrophyles.

Il s'agit d'une protéines ubiquitaires : on les retrouve dans tous les plantes et principalement chez les cultures annuelles tels que les céréales et son présents généralement dans de nombreux compartiments cellulaires comme le noyau, le cytoplasme, le réticulum endoplasmique et elles ont été récemment découvertes au niveau de la mitochondrie et chloroplastiques ces protéines peuvent protéger les autres macromolécules ou structures cellulaires aidant à maintenir l'intégrité des membranes. Ces protéines sont thermostables et maintiennent leur intégrité en solution aqueuse, à une température allant jusqu'à 95°C, ce qui pourrait être dû à la perte de structure rigide à l'état natif (Allagulova et al, 2003).

Les déhydrines sont caractérisées par une large gamme de masses moléculaires 9-200 KDa (Hamla, 2016), elles sont riches en glycine et les résidus de lysine, mais pauvres en cystéine et le tryptophane (Allagulova et al, 2003) et de ce fait elles résistent à la dénaturation thermique et à la dénaturation acide. La particularité de tous les déhydrines consiste au partage trois domaines hautement conservés : le segment-K présent dans toutes les déhydrines et qui est riches en lysine, du côté C-terminal, (séquence hautement conservée), ainsi que le segment Y et une chaîne de sérines contiguë ou segment-S.

Les protéines DHNs présentent une grande diversité concernant le nombre et l'ordre de leur segment YSK ; la caractérisation biochimique de ses différentes formes, permettra la clarification de ces différences et la détermination de leur implication fonctionnelle.

Les LEA sont des protéines en majorité très hydrophiles qui semblent impliquées dans la protection des structures cellulaires, ce qui en fait des protéines potentiellement très importantes dans la vie des cellules. Elles sont très nombreuses et diverses et forment un très vaste ensemble de familles de protéines.

D'après (Close, 1996), les DHN sont les plus largement étudiées et plusieurs fonctions putatives en réponse à un stress hydrique ont été proposées, telles que la stabilisation des structures membranaires de la cellule, ou la régulation du potentiel osmotique cellulaire.

2) Accumulation des osmolytes face aux stress abiotique :

Afin de se protéger contre un stress osmotique en conditions stressantes, les plantes synthétisent en grande quantité des solutés compatibles. Il s'agit de molécules hautement solubles, de faible poids moléculaire et non toxique, ils sont sans charge et tendent à être neutres au pH physiologique, (Farooq et al, 2009).

Ils s'accumulent majoritairement dans le cytoplasme et n'interfèrent en aucune mesure avec le métabolisme normal de la plante, Leur principal rôle étant, de préserver la turgescence

des cellules, en maintenant une osmolarité intracellulaire égale à l'osmolarité extracellulaire, évitant ainsi un efflux (allant du dedans vers le dehors) d'eau de la cellule.

Etant donné que l'augmentation du potentiel osmotique peut s'accompagner d'une accumulation d'ions, les osmolytes vont alors assurer la stabilisation des protéines, la prévention de l'intégrité membranaire ainsi que l'élimination des radicaux libres, tout en évitant la déshydratation cellulaire (Tuteja, 2005) on cite parmi eux :

2.1 Le mannitol :

Le Mannitol est la forme réduite du mannose. Ce sucre alcool se retrouve très largement distribué chez les plantes. Son accumulation est souvent mise en évidence lors de stress salins. Cette accumulation entraîne la diminution du potentiel osmotique dans le cytoplasme, il s'ensuit d'une augmentation de l'habileté de ce dernier à retenir l'eau et par conséquent atténuer l'effet de sécheresse physiologique que cause le stress (Ykhlef, 2011)

2.2. Sucres et dérivés :

Si les sucres sont les éléments carbonés primaires synthétisés et exportés dans toute la plante lors de la photosynthèse, ils ont également un rôle non énergétique d'osmorégulateur et d'osmoprotectant .En effet Ces osmotocums participent eux aussi au maintien de la balance de la force osmotique, pour garder la turgescence au niveau des feuilles de blé en conditions de stress (Najdjm., 2008).

L'accumulation de sucres tels que saccharose, le tréhalose, les hexoses et les oligosaccharides de la famille du raffinoses et des polyols, est obtenue le plus souvent, par une hydrolyse accrue de l'amidon (Plessis., 2009), permettant aux plantes une préservation de l'intégrité membranaire et, en enveloppant les protéines, ils protègent ces dernières de la perte de leur conformation.

2.3. La proline :

La proline est certainement l'un des osmolytes le plus répandu, en effet l'accumulation de la proline constitue un mécanisme de tolérance à la sécheresse (Bensalem et al, 2005), elle semble jouer un rôle particulièrement important. On lui attribue un rôle d'osmotocum au niveau cytosolique et vacuolaire, mais aussi, un rôle dans la régulation du potentiel redox. (Bousba et al, 2009) En plus, de protéger les membranes et les enzymes contre les perturbations conformationnelles causées par les ions, mais l'origine de la proline accumulée sous stress, reste pas totalement éclaircie.

2.4. La glycine bêtaïne :

La glycine bêtaïne, est une petite molécule ultra soluble impliquée dans l'osmoprotection. Le terme bêtaïne est utilisé invariablement pour désigner les composés suivants: la glycine bêtaïne, la β -alanine bêtaïne et la hydroxyproline bêtaïne. La synthèse de la bêtaïne augmente

considérablement lorsque l'organisme est exposé à des facteurs environnementaux qui modifient les conditions internes des cellules. Ces conditions défavorables peuvent être créées par des stress tels que la chaleur, la salinité, la sécheresse ... (Neffar, 2013)

Les méthodes d'action de ces osmoprotecteurs ne sont pas encore toutes élucidées mais il est évident que, jusqu'à un certain point, la bêtaïne agirait comme un "capteur d'eau" qui permettrait de stabiliser la conformation des protéines, leur permettant ainsi d'être fonctionnelles lorsque les conditions sont préjudiciables (Vinocur et Altman, 2005).

Par ailleurs, la régulation des réponses aux stress abiotiques peut aussi se faire par l'acide abscissique (ABA), l'acide jasmonique, éthylène, le calcium ou autres. En effet, plusieurs gènes induits par les stress sont régulés par l'ABA. Ce dernier joue un rôle important dans la fermeture des stomates et l'induction de l'expression des gènes (Dubos, 2001).

La plante, comme tout organisme vivant, est influencée durant toute sa vie par les conditions climatiques et édaphiques du milieu. Ces conditions vont lui assurer soit un environnement favorable à la croissance et au développement, soit la soumettre à des facteurs de stress.

3) L'utilisation des gènes de tolérance au stress abiotique par les approches biotechnologique chez le blé :

Pour la tolérance aux stress abiotiques ainsi que pour ses qualités semoulière en intégrant différents outils (marquage moléculaire du génome nucléaire, outils morpho-physiologiques et biotechnologiques), en visant une utilisation plus efficace des ressources génétiques du blé dur et des espèces apparentées. La mise en œuvre de ce programme est sur le point d'aboutir à l'établissement de cartes de marqueurs moléculaires qui doivent permettre de localiser les loci contrôlant la qualité du grain ainsi que la tolérance du blé aux principaux stress abiotiques, ce qui devrait considérablement améliorer l'efficacité de la sélection de cette céréale, très importante du point de vue alimentaire pour tous les pays du pourtour méditerranéen.

L'emploi de ces techniques de biotechnologies végétales s'est avéré efficace pour faire des progrès dans la compréhension des mécanismes intervenants dans la tolérance aux stress (Benderradji, 2013). L'identification de gènes induits en condition de stress, constitue une approche très prometteuse en amélioration des plantes. En effet, l'isolement de gènes candidats et leur caractérisation devrait permettre à court terme leur transfert à d'autres fonds génétiques plus performants et qui sont généralement plus sensibles aux stress abiotiques.

De nombreux sélectionneurs de céréales visent l'intégration des nombreuses techniques de biologie moléculaire et de biotechnologies, développées au cours des dernières années, dans les schémas traditionnels de production et d'amélioration génétique du blé. Ces

biotechnologies ont élargi l'éventail des possibilités d'intégration qui s'offrent au phytogénéticien tout en modifiant les méthodologies de croisements, de sélection, d'évaluation et de mise en marché de semences améliorées. Essentiellement les biotechnologies particulières aux céréales cherchent à enrichir la diversité génétique et à produire des lignées fixées :

3.1 Marqueurs moléculaires :

L'utilisation des marqueurs moléculaires renforce la sélection classique. Elle identifie et étiquette les gènes d'intérêts. Elle améliore la gestion et la manipulation de la variabilité génétique pour construire des génotypes cumulant des gènes favorables. Grâce aux marqueurs nucléaires, il devient, en effet possible, d'une part, de mieux lire le génotype à travers le phénotype, et d'autre part, de contrôler les recombinaisons entre locus en cause (Bartels et Sunkar, 2005). Ceci est d'autant plus intéressant que les marqueurs morphologiques car ils sont relativement peu influencés par la fluctuation environnementale, Ils sont aussi indépendants de l'organe mesuré ou analysé du stade de développement du sujet concerné. La sélection assistée par des marqueurs (SAM) devient de plus en plus un complément nécessaire aux schémas de sélection classique d'amélioration des céréales (Hospital, 2001). Cette technique a été utilisée de manière avantageuse dans l'amélioration de la résistance aux maladies et aux insectes.

Les marqueurs sont, en effet, considérés comme des caractères liés au caractère principal à sélectionner. (Paterson et *al*, 1991), montrent l'existence de QTL (Quantitative Traits Loci) spécifiques pour l'adaptation à certains milieux. Pour obtenir donc, des variétés stables, il faut accumuler dans un même fond génétique, le maximum de QTL d'adaptation. La SAM devrait permettre de construire plus rapidement et avec plus de sécurité de tels génotypes.

3.2 Génie génétique :

L'introduction directe d'un petit nombre de gènes par génie génétique offre une alternative agréable et une approche rapide pour l'amélioration de la tolérance aux stress abiotiques. La stratégie basée sur le génie génétique repose sur le transfert d'un ou plusieurs gènes qui codent soit pour un processus biochimique soit comme terminateurs de la voie des signaux de transcriptions (Yang et *al*, 2001). Les produits résultants de l'action des gènes introduits apportent une certaine protection, directe ou indirecte, vis à vis des stress abiotiques.

Dans ce contexte les gènes codant pour les Late Embryogenesis Protein Abundant (LEA), qui s'accumulent au cours de la dessiccation du grain et dans les tissus végétaux, lorsque la plante expérience le déficit hydrique, ont émergé récemment comme des candidats attractifs pour la génomique de la tolérance au stress.

3.4 L'haplodiploïdisation :

L'haplodiploïdisation offre l'avantage de faciliter et de simplifier la sélection et certaines analyses en génétique quantitative. Elle constitue un outil efficace, en marquage moléculaire, car les performances agronomiques de ces lignées haplodiploïdes sont plus faciles à évaluer à cause de leur stabilité génétique. Ces techniques présentent l'avantage de bien se prêter à l'évaluation au niveau cellulaire de la résistance à divers stress abiotiques.

Des résultats originaux ont été obtenus jusqu'à présent par ces approches. Ils ont pu mettre en évidence une panoplie de gènes régulés au cours du stress abiotique, selon une séquence précise d'évènements (Bousnane, 2012). de la séquence des gènes, ont pu déduire la séquence des protéines correspondantes. Des fonctions ont pu être suggérées,

Certaines protéines correspondent à des :

Protéines de défense ou de stress ; de type « glucanase, Pr -Pathogenesis related- ».

Protéines à rôle physiologique inconnu jusqu'à présents mais qui pourraient intervenir par leur état d'hydrophobicité « déhydrines, protéines LEA, PRP-Prolin rich protéins»

Protéines métaboliques « choline oxydase ».

4) Les stress abiotiques et leurs effets sur la plante :

Sous les conditions de production des principales zones céréalières algériennes, notamment celles des hauts plateaux, la plante est le plus souvent soumise à une série de contraintes de nature abiotique. Les plus importantes de ces contraintes, suite aux rôles majeurs qu'elles jouent dans les fonctions essentielles de la plante, sont la variation de la précipitation, de la température, de l'humidité du sol, et de la salinité, ces stress se traduisent chez les plantes par des changements morphologiques, physiologiques et moléculaires qui affectent leur mode de vie.

4.1 Notion de stress

Le terme « stress » définit l'ensemble des perturbations biologiques provoquées par une agression quelconque sur un organisme. C'est un processus qui induit une contrainte potentiellement néfaste sur un organisme vivant.

En revanche ce terme lorsqu'il est utilisé en biologie végétale, a des connotations particulières, il représente le (s) facteur(s) responsable(s) des perturbations, et des changements, plus ou moins brusque par rapport aux conditions normales de la plante subies au cours de son développement (Bouchoukh, 2010).

En effet, le stress signifie la déviation dans le développement et les fonctions normaux de la physiologie des plantes, il est perçu au niveau cellulaire puis transmis à la plante entière. Le changement dans l'expression des gènes qui s'ensuit modifie la croissance et le

développement, et influence les capacités reproductives de la plante, causant ainsi des dommages aux plantes. (Benkoli et Bouzeghaia, 2016)

La plante accomplit le retour à la stabilisation et les réactions de répartition par un réajustement d'états adaptés et le maintien de grands pouvoirs de résistance, qui font tous appel à une énergie additionnelle et métabolite

4.2. Stress abiotique

Les facteurs abiotiques sont ceux liés à l'action du non-vivant sur le vivant ils sont dû principalement à des facteurs environnementaux. (Izzar et Meziani, 2015), susceptibles de déclencher des modifications dommageables, provoquant ainsi chez une espèce végétale une augmentation du taux de mortalité de la population.

En effet les plantes se trouvent rarement dans des conditions environnementales optimales, elles se trouvent souvent dans des conditions extrêmes qui amènent les organismes à la limite de la survie.

Un stress peut l'être pour une plante sans l'être pour une autre. Des facteurs comme l'âge sont importants et avec le réchauffement climatique, la pression exercée par certains stress augmentera très certainement.

4.3 Stress hydrique

La notion de stress hydrique ou sécheresse renvoie en réalité le plus souvent à de nombreuses définitions :

◇ En météorologique, la sécheresse est une absence prolongée, voire une faible distribution, des précipitations, en relation avec une valeur dite normale.

◇ En hydrologie, on parle de sécheresse dès lors qu'à l'échelle régionale la hauteur des pluies est inférieure à la moyenne saisonnière, ce qui se traduit par un approvisionnement insuffisant des cours d'eau et des réserves d'eau superficielles ou souterraines.

◇ En agriculture, Le stress hydrique peut se définir comme le rapport entre la quantité d'eau nécessaire à la croissance de la plante et la quantité d'eau disponible dans son environnement, (Mouellef, 2010), La demande en eau de la plante est quant à elle déterminée par le niveau de transpiration ou évapotranspiration.

En effet, on assiste à un stress hydrique lorsque la demande en eau dépasse la quantité disponible pendant une certaine période de sécheresse (Kara et Zerguine, 2016), où la plante est placée dans un environnement qui amène à ce que la quantité d'eau transpirée par la plante soit supérieure à la quantité qu'elle absorbe.

L'installation d'une sécheresse se manifeste par la combinaison d'une part, de la restriction de la disponibilité en eau du sol et, d'autre part, de l'augmentation de la demande évaporatrice.

Le manque d'eau, déficit hydrique ou la sécheresse représente le stress abiotique le plus sévère, auquel la culture du blé dur fait face dans les conditions de productions des zones arides et semi- arides (Chennafi et *al*, 2006).

4.4 Stress salin

La salinité est définie selon plusieurs chercheurs comme étant la présence processus pédologique selon lequel le sol s'enrichit anormalement en sels solubles acquérant ainsi un caractère salin, C'est un facteur environnemental très important qui limite la croissance et la productivité. La salinité élevée des sols due essentiellement au chlorure de sodium affecte le tiers des terres à l'échelle mondiale et constitue un facteur limitant prépondérant de la production végétale.

La salinité se rencontre en de nombreuses zones arides et semi arides du bassin méditerranéen (Drevon et *al*, 2001). En Algérie les facteurs qui contribuent à l'extension du phénomène de salinisation des terres sont liés à : l'aridité du climat qui porte sur plus de 95% du territoire, la qualité médiocre des eaux d'irrigation, le système de drainage souvent inexistant ou non fonctionnel et la conduite empirique des irrigations, Le fort ensoleillement et la faible pluviométrie font accumuler les sels dissous en surface. Ces accumulations transforment profondément les propriétés physique et chimique du sol avec pour conséquence principale un milieu qui devient non productif voir stérile, Le sol est alors colonisé d'une manière plus au moins dense par des peuplements de plantes halophytes.

4.5 Stress thermique

Pour effectuer sa croissance et son développement, chaque plante exige une gamme bien particulière de températures. Chaque plante possède une température optimale de croissance et de développement, Lorsque la température avoisine se limites, la croissance diminue et au-delà, elle s'annule (Haichour, 2009).

Le stress thermique est souvent défini quand les températures sont assez hautes ou basses pendant un temps suffisant pour qu'elles endommagent irréversiblement la fonction ou le développement des plantes. Elles peuvent être endommagées de différentes manières, soit par des températures basses ou élevées de jour ou de nuit, par l'air chaud ou froid ou par les températures élevées du sol. La contrainte thermique est une fonction complexe qui varie selon l'intensité (degré de la température), la durée et les taux d'augmentation ou de diminution de la température. (Oukarroum, 2007)

On appelle températures critiques, les températures minima et maxima au-dessous et au-dessus desquelles le végétal est tué. Elles sont extrêmement variables suivant les espèces et selon le stade de végétation.

5) Les effets des stress abiotique sur le blé :

5.1 Effet du stress hydrique:

L'eau constitue le milieu interne des plantes. C'est une véritable matrice vitale du fonctionnement cellulaire, les différents organes de la plante renferment entre 80 et 90 % d'eau. Cette eau est nécessaire au fonctionnement de la plante. L'eau d'imbibition qui s'évapore suite à la transpiration est renouvelée en permanence par l'eau absorbée par les racines.

L'eau joue un rôle primordial dans la photosynthèse, le transport et l'accumulation des éléments nutritifs ainsi que dans la division cellulaire et la régulation thermique, c'est l'élément essentiel dans la croissance et le développement des plantes cultivées

En effet l'eau est indispensable aux plantes à tous les niveaux. A l'échelle moléculaire, l'eau agit comme matrice pour toutes les réactions enzymatiques au niveau de la phase photochimique de la photosynthèse, et apporte de l'hydrogène et de l'oxygène. A l'échelle de la cellule, l'eau a un impact direct sur l'architecture des organes et leur élongation. Enfin, à l'échelle de la plante, elle permet l'assimilation des solutés présents dans le sol et leur migration vers les parties aériennes de la plante.

Le stress hydrique est l'un des stress environnementaux les plus importants, affectant la productivité agricole autour du monde, il occupe et continuera d'occuper une très grande place dans les chroniques agro-économique. C'est un problème sérieux dans beaucoup d'environnements arides et semi-arides tel qu'en Algérie, où les précipitations changent d'année en année et où les plantes sont soumises à des périodes plus ou moins longues de déficit hydrique (Mefti et *al*, 2000).

(Tardieu,2005) mentionne que le statut hydrique de la plante passe progressivement par trois principales phases, selon le développement du stress hydrique. Au cours de la phase initiale, la transpiration et l'assimilation se déroulent comme si la plante dispose de l'eau à volonté. Cette phase se poursuit jusqu'au moment où le niveau d'absorption racinaire ne peut plus satisfaire la demande des feuilles faute de l'épuisement des réserves utile du sol. Après ce seuil, la plante entre dans la seconde phase, au cours de laquelle la transpiration et l'assimilation sont réduites relativement à leur potentiel. La plante réagit de façon dynamique au cours de cette phase, pour rétablir l'équilibre entre la demande et l'offre du sol, en faisant intervenir des mécanismes qui lui sont propres. Quand le déficit hydrique devient plus intense, alors la plante entre dans la troisième et dernière phase au cours de laquelle la croissance s'arrête.

Le manque d'eau ou déficit hydrique représente le stress abiotique le plus sévère auquel la culture du blé dur fait face (Chenaffi et *al*, 2006), il affecte plusieurs paramètres au niveau de la plante, qui sont :

▪ **La photosynthèse :**

Parmi les modifications physiologiques liées au stress hydrique, la régulation stomatique qui influe sur la photosynthèse et la respiration, La baisse du potentiel hydrique de la plante se traduit principalement par une diminution de la pression de turgescence (Benkolli et Bouzeghaia,2016) ensuite à une perte de fonctions vitales. Donc un stress hydrique provoque la fermeture des stomates, ralentissant la photosynthèse en même temps que la transpiration (Issad, 2013). La sécheresse menace la capacité de la plante à maintenir sa photosynthèse (Hamla, 2016).

En cas de déficit hydrique, la plante pourra être exposée d'abord à une perte de turgescence.

▪ **La croissance végétative :**

Un stress hydrique limite sérieusement la croissance de la plante et sa reproduction par rapport au potentiel du génotype. (Bouakaz, Hamadouche ,2015).

On note principalement une diminution importante de la taille, de la longueur des entre nœuds, du nombre de feuilles voire de la surface foliaire (Attia, 2007). Il affecte en parallèle la croissance des racines et des parties aérienne, ainsi que le développement des feuilles et des organes reproducteurs (Neffar, 2013), donc un déficit hydrique contrôle la croissance végétative en réduisant la vigueur de la plante. Les plantes soumises à un déficit hydrique voient généralement leur sénescence s'accélérer; et une perte trop importante d'eau par transpiration peut conduire à la mort des cellules (Bouchabke et *al*, 2006).

▪ **Le rendement et la composition du grain :**

Le déficit hydrique est une contrainte abiotique majeure de la production agricole, il impact négativement sur le rendement de culture et la qualité des produits (Benkhellef, 2016) Le déficit hydrique affecte significativement les composantes du rendement, en effet le rendement en grains chez le blé dépend fortement du nombre de grains par épi, du poids de grains par épi et du nombre d'épis par m², Le tallage est l'un des principaux facteurs déterminant le rendement en grains chez les céréales, une carence hydrique précoce durant la phase végétative réduit le nombre et la taille des talles chez le blé, après la fécondation il réduit la taille des organes et si il se poursuit pendant la phase de remplissage, il affecte leur composition. Et entraîne une diminution du poids de 1000 graines par altération de la vitesse et la durée de remplissage des grainsbou. (Bouthiba et *al*, 2010). Le déficit hydrique se manifeste aussi par la production très réduite du nombre de grains par épi, du nombre d'épis par plante, (Condon et *al*, 2004), et du nombre d'épis par unité de surface. (Benhabdelhafid,

2016) réduisant par conséquent le rendement économique de la culture, qui peut baisser de plus de 80%.

▪ **Le métabolisme de la graine :**

Les différents métabolismes sont inégalement affectés par le déficit hydrique (le métabolisme carboné l'est davantage que le métabolisme azoté).

les concentrations relatives des différents composés sont modifiées : un manque d'eau induit généralement une baisse des teneurs en amidon et en huile des graines, et une augmentation des teneurs en protéines (Hireche, 2006)

Les effets physiques, chimiques et physiologiques du stress hydrique dépendent du degré et du temps des conditions de sécheresse en relation avec le stade de développement de la plante (Bouakez et Hamadouche 2015), mais Les risques de manque d'eau vont devenir de plus en plus fréquents et persistants, à l'avenir, par suite des changements climatiques causés par l'effet de serre .

5.2. Effets du stress salin :

La salinité constitue l'un des principaux stress abiotiques limitant la croissance et le développement de la plante cultivées (Abdelly et al, 2008). Cette salinité peut être naturelle ou induite par les activités agricoles comme l'irrigation ou l'utilisation de certains types d'engrais.

Par ailleurs, la salinité est un facteur environnemental très important qui affecte : la réduction du nombre des feuilles, la conductance et la résistance stomatique (Rejeb et al, 1991), la synthèse des protéines, le métabolisme énergétique et la photosynthèse. la présence de NaCl dans le milieu de culture limite l'alimentation de la plante en cations majeurs, tels que le potassium (K^+) et le calcium (Ca^{2+}) (Zid et Grignon, 1991).

La réduction de la chlorophylle est corrélée avec l'accumulation du Cl^- dans les tissus. De plus la salinité impose à la plante une réduction de l'absorption des ions essentiels tels que le K^+ et Ca^{2+} , conduisant à un déséquilibre ionique (Zhu, 2001). Ca^{2+} est nécessaire pour le maintien de la sélectivité et l'intégrité de la membrane cellulaire, d'où un déficit en Ca^{2+} affecte la sélectivité de la cellule et l'intégrité de la membrane, accélérant le passage passif des ions Na^+ et leur accumulation dans les tissus (Cramer, 2002).

Cependant Les effets nutritionnels de la salinité incluent les deux actions primaires du sel sur les plantes: la toxicité directe due à l'accumulation excessive des ions dans les tissus et un déséquilibre nutritionnel provoqué par l'excès de certains ions.

Les plantes produisent des espèces réactives à l'oxygène, nommés ROS (radicaux superoxyde (O_2^-), peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), et radicaux hydroxyle (OH) en réponse à

un stress salin. Ceci cause d'importants dommages dans des lipides membranaires, des protéines et acides nucléiques.

La genèse de ROS dans une plante soumise aux contraintes salines a pour origine à un dysfonctionnement des métabolismes photosynthétique et respiratoire. Ainsi, une réduction de la photosynthèse suite à une fermeture des stomates conduit à une diminution de la teneur en eau, réduisant les possibilités de piégeage de l'O₂ par les systèmes antioxydants couplés à la photosynthèse (Hsu et Kao, 2004).

D'autres auteurs, signalent que le stress salin a pour effet immédiat de limiter la croissance en inhibant la croissance foliaire par des messages hormonaux partant des racines en directions des feuilles. L'hormone impliquée est probablement l'acide abscissique. La salinité provoque le plus souvent un retard dans le développement, D'une manière générale ; la croissance en longueur, le diamètre des tiges et la grosseur des fruits diminuent d'une façon importante avec l'augmentation de la salinité (Boukachabia, 1993).

Une forte diminution de la disponibilité en eau. Cela nécessite un ajustement osmotique adapté, afin que le potentiel hydrique cellulaire demeure inférieur à celui du milieu extracellulaire et à celui du sol. Ce phénomène assure d'une part, la poursuite de l'absorption de l'eau du sol, et d'autre part, la rétention de l'eau intracellulaire et le maintien de la turgescence. Lorsque l'ajustement osmotique est insuffisant, l'eau a tendance à quitter les cellules, ce qui provoque un déficit hydrique et la perte de la turgescence.

Sous les conditions salines il y'a un changement dans le modèle d'expression des gènes, et des changements qualitatifs et quantitatifs dans la synthèse des protéines. Plusieurs études révèlent que le chlorure de sodium diminue la synthèse des protéines et augmente leur hydrolyse chez les plantes cultivées telle que le petit pois, le blé et le haricot. (Agastian *et al*, 2000) ont rapporté que les protéines solubles augmentent à des niveaux bas de salinité et diminuent à des seuils élevés de concentrations salines chez certaines plantes.

Le degré de sensibilité au stress salin dépend aussi du stage végétatif au cours duquel la plante subit le stress. Chez certaines espèces, c'est le stage juvénile qui est le plus sensible, alors que chez d'autres espèces, c'est le stade adulte qui est le plus sensible. Ainsi par exemple l'orge, le blé, le sorgho, la betterave et le tournesol se montrent plus sensibles au stade juvénile qu'au stade plante adulte (Munns *et al*, 2006).

5.3. Effets du stress thermique :

Le stress thermique est l'un des stress abiotiques qui limitent le développement de la plante, en effet lors des trente dernières années la température de la terre a augmenté de 0.2°C chaque décennie un réchauffement de 1.4 jusqu'à 5.8°C est prévu au cour du 21ème siècle. (Braun *et al*, 2002).

L'influence du stress des hautes températures est variable en fonction du stade végétatif de la plante et de l'interaction avec d'autres stress tel que le stress hydrique. En effet, une plante qui est exposée à une haute température mais qui a accès à suffisamment d'eau aura la possibilité de maintenir ces stomates ouverte afin que l'évaporation abaisse la température des feuilles, Dans la nature, la combinaison de deux stress reste une situation habituelle.

Les céréales sont fortement confrontées à ce stress. Son effet Sur le semis se matérialise par une réduction de la longueur de la coléoptile, et du nombre de plantes levées par unité de surface, dans ce cas la plante ne peut pas s'ancrer en profondeur et devient très sensible.

Les hautes températures sont parmi les facteurs intervenant dans la limitation des rendements. Effectivement, les organes floraux et la formation du fruit sont affectés. De même que la méiose et la phase de remplissage de la graine sont particulièrement sensibles à l'élévation de la température. Le nombre de grains par épi et le poids moyen du grain sont fortement réduits. (Kara et Zerguine, 2016).

L'effet de cette haute température se manifeste aussi par une accélération de la sénescence foliaire et l'arrêt de la croissance du grain (Bendarradji, 2013). Notamment une accélération du développement et une réduction des dimensions des organes constitutifs de la plante. Qui en résulte un effet négatif sur la productivité globale de la plante.

(Ibrahim et Quick, 2001) montrent 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 à les utiliser, au rythme imposé par le stress thermique.

En clair, beaucoup de cultures en régions tropicales sont déjà soumises au stress de chaleur. Si les températures montent plus haut, la défaillance des cultures dans certaines régions traditionnelles deviendrait de plus en plus courante.

6) Mécanismes d'adaptation du blé au stress abiotique

6.1 Mécanismes d'adaptation au stress hydrique chez le blé :

Le stress hydrique provoqué par un déficit en eau constituant une menace permanent pour la survie des plantes, néanmoins, beaucoup d'entre elles produisent des modifications morphologiques et physiologiques qui leurs permettent de survivre dans les régions de faible pluviosité et dont la teneur en eau des sols est peu élevée (Benderradji et al, 2013).

L'adaptation est un mécanisme nécessaire pour les variétés à adopter dans les régions arides et semi- arides, (Ainaoui, Lafala,2016), pour permettre le maintien de la croissance, du développement et de la production ,tolérant ainsi la sécheresse.

D'autre part, la réponse de la plante à la sécheresse dépend de l'espèce, le génotype, la durée et la sévérité de la perte d'eau (Bouakez et Hamadouche,2015).

6.1.1 Adaptation phénologique « l'esquive / l'échappement » :

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 plante réalisera donc son cycle pendant la période favorable (pluvieuse) en réduisant voire en annulant les effets du stress hydrique qui se produit au cours d'une phase sensible

La précocité constitue de ce fait un important mécanisme d'esquive au stress hydrique de fin de cycle. (Mazouz ,2006), ce mécanisme consiste en un ensemble d'astuces dont se sert la plante pour conserver le potentiel hydrique de ses tissus à un niveau assez élevé durant les périodes de déficit hydrique afin d'éviter leur déshydratation, en effet 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.

La précocité chez les céréales en zones méditerranéennes est un mécanisme largement exploité par le agriculteurs comme stratégie d'adaptation aux stress dans le contexte à faire coïncider les phases les plus sensibles avec les périodes où le stress est moins intense, La précocité 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.

Pourtant il n'est pas sans présenter des inconvénients (Jean-pierre et al,2006),De nombreux travaux ont montrés l'existence d'une corrélation positive entre la longueur du cycle et le rendement potentiel. L'adoption d'une telle stratégie par l'utilisation de variétés précoces entraine le sacrifice de productivité.

6.1.2 Adaptation morphologique « l'évitement » :

En milieux défavorables, les caractères morphologiques peuvent jouer des rôles assez importants réduisant la variabilité des rendements.

Les mécanismes d'adaptation peut prendre forme, suite à des modifications d'ordre morphologiques pour améliorer l'absorption de l'eau, et/ou diminuer la transpiration et la compétition entre les organes pour les assimilés. Ce phénomène est défini par l'évitement parmi ces mécanismes d'adaptations morphologique on cite :

▪ *Réduction de la surface foliaire :*

La diminution de la surface foliaire des feuilles est considérée comme une réponse ou adaptation au manque d'eau, en effet cette réduction de la surface foliaire est un moyen judicieux pour le contrôle des pertes d'eau, en ajustant la consommation en eau chez les céréales, ces dernières sont dites plantes économes (Chaves et al, 2009).

D'autre type d'adaptation foliaire développé à plus long terme par les plante face à un manque d'eau est l'enroulement de la feuille. Chez le blé, l'enroulement foliaire observé chez certaines variétés peut être considéré comme un caractère d'évitement de la déshydratation, il

entraîne une diminution de 40 à 60 % de la transpiration (Nabors, 2008) tout en minimisant le rayonnement absorbé par les feuilles.

▪ **Développement racinaire accru :**

L'efficacité de l'extraction de l'eau du sol par les racines figure parmi les types d'adaptation permettant à la plante d'éviter ou, plus exactement, de retarder la déshydratation de ses tissus. L'augmentation de l'absorption peut être due à l'extension de l'absorption en profondeur pour avoir accès à des horizons plus humides, ainsi elles s'assurent une meilleure alimentation hydrique (Jackson et al, 2000), par une vitesse de croissance et de ramification des racines. Ces plantes sont dites dépensières en eau.

(El hassani et Persoons, 1994) ont démontré que les plantes à enracinement superficielle et peu dense souffrent plus du déficit hydrique que ceux à enracinement profond, et (Bagga et al, 1970), ont conclu que les blés hauts ont un indice de sensibilité à la contrainte hydrique plus faible comparativement aux blés nains et semi-nains. Ceci s'expliquerait par le fait qu'une paille haute s'accompagne souvent d'un système racinaire profond ce qui conférerait la plante une capacité d'extraction de l'eau supérieure

Cette stratégie, bien que favorable au maintien du statut hydrique du végétal, est pénalisante pour le gain de carbone.

6.1.3 Adaptation physiologique « tolérance » :

La survie des plantes, dans la plupart des environnements, nécessite la mise en œuvre de la stratégie de tolérance aux stress (Mazouz, 2006), étant donné que le stress hydrique provoque une diminution de la turgescence la plante doit maintenir son statut hydrique fonctionnel, En effet, Face à ce stress, les plantes déploient différentes stratégies adaptatives. Celles-ci sont souvent le résultat de plusieurs remaniements physiologique (Bousbaa et al, 2009), ces mécanismes intervenant dans la tolérance assurent l'hydratation cellulaire et diminuent la perte en eau en maintenant un statut hydrique favorable au développement foliaire. Ces procédés se manifeste par :

▪ **La capacité photosynthétique et la teneur en chlorophylle:**

la survie des plantes au manque d'eau est en partie dû à la diminution de la capacité photosynthétique des feuilles, permettant le rétablissement rapide des plantes suite à une période de stress hydrique. (Mouellef, 2010)

Sous 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, cet économie en l'eau se traduit par une dilution de la chlorophylle.

- **La fermeture stomatique :**

En situation de déficit hydrique, la plante transpire énormément, cette transpiration se manifeste par une perte d'eau sous forme de vapeur, devant ça les plantes répondent immédiate au stress hydrique par la fermeture des stomates (Figure1), en effet, en cas de déficit hydrique, les racines synthétisent l'ABA qui est véhiculé par la sève jusqu'aux feuilles où il déclenche alors la fermeture de stomates (Benkhellef, 2016), Le contrôle stomatique équilibre le bilan hydrique de la plante, restaure la turgescence et la croissance, des feuilles sensibles vis à vis du déficit hydrique.

En revanche cette stratégie provoque une augmentation de la température foliaire et une réduction de l'assimilation du CO₂ d'où une réduction de l'activité photosynthétique.

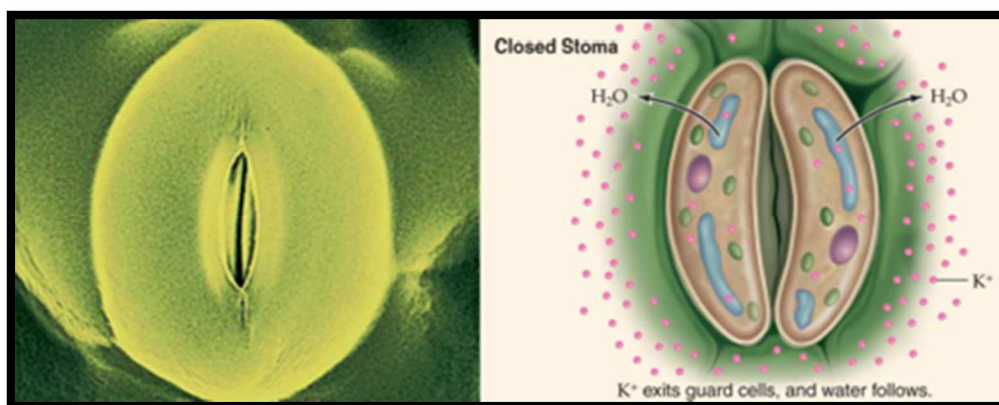


Figure1 : La fermeture des stomates. (Chantal, 2009)

- **Ajustement osmotique**

Le stress hydrique provoque la mise en place d'un état de régulation hydrique de la plante qui se manifeste par une régulation du potentiel osmotique, L'ajustement osmotique est un exemple d'adaptation qui permet le maintien d'une turgescence positive pour des teneurs en eau relativement faible ,il intervient aussi en retardant la sénescence foliaire et en améliorant l'extraction de l'eau par les racines de ce fait de continuer ses activités métaboliques et survivre à la contrainte (Leonardis et al,2010).

On parle d'ajustement osmotique quand les concentrations des solutés à l'intérieur de la cellule augmentent pour maintenir une pression osmotique cellulaire élevée. La cellule accumule alors activement des molécules comme réponse à la chute du potentiel osmotique, se traduisant ainsi par une plus grande capacité d'attraction et de rétention des molécules d'eau. (Nadjim, 2008).

Ces molécules, appelées osmoticum, s'accumulent le plus souvent dans le cytoplasme peuvent être des acides aminés (proline, alanine), des sucres (saccharose, tréhalose, fructanes), des ions quaternaires (bétaines, proline-bétaine), des ions inorganiques (K⁺) ou encore des acides organiques (malate, glutamate, citrate), des hormones (acide abscéique).La

nature des osmolytes impliqués dans l'ajustement osmotique est généralement spécifique de l'espèce étudiée.

6.2. Mécanismes d'adaptation au stress salin chez le blé :

La tolérance à la salinité représente la capacité de la plante à maintenir la croissance sous conditions salines. Pour réaliser cela, la plante doit posséder des mécanismes pour tolérer la salinité (Mahajan et Tuteja, 2008). En ce qui concerne la tolérance des céréales à la salinité, celles-ci dépendent de la variabilité génétique telle que certaines espèces qui résistent à ce type de stress abiotique que d'autres. Particulièrement l'effet toxique des sels est moins prononcé chez le blé tendre que chez le blé dur (Munns, 2007).

La tolérance à la salinité n'est pas un mécanisme qui est présent ou absent, c'est plutôt un phénomène qui prend différents degrés d'expression, variables selon les génotypes et les conditions de croissance. La conséquence est une large variabilité de réponses chez les plantes soumises au stress salin et les différents mécanismes utilisés par les plantes pour tolérer le stress salin sont décrits comme suit :

6.2.1 L'exclusion :

La plante empêche le sel de remonter jusqu'aux feuilles. Une première barrière existe au niveau de l'endoderme, couche interne de cellules de la racine, la tolérance à la salinité est associée à l'exclusion de l'ion Na^+ (Alberico et Cramer, 1993). L'exclusion n'est, cependant, pas toujours synonyme de tolérance au stress salin. En effet certains génotypes, sensibles au stress salin, accumulent fortement moins d'ions Na^+ dans la tige comparativement aux génotypes tolérants (Zerroum, 2012). Ainsi on a noté qu'un génotype de maïs tolérant le stress salin accumule l'ion Na^+ à un rythme qui est le double de celui noté chez le génotype sensible (Cramer et al, 1994).

6.2.2 L'inclusion :

Les ions chlorures et sodium pénètrent les plantes par les racines et sont véhiculés par le xylème vers les tiges et les feuilles, à ce niveau ils sont stockés et il s'agit de plante de type « inclusers » (Gaid, 2015). Cette stratégie « inclusion » caractérise le fait de favoriser le stockage du sodium dans les feuilles en préservant le méristème apical. L'inclusion et la compartimentation est la stratégie la plus efficace pour éviter la toxicité de Na^+ sur des sites métaboliques dans le cytoplasme (Jebnoune, 2008), La plante utilise en effet le sel pour ajuster la pression osmotique de ses cellules. Elle capte le sel qui parvient aux feuilles, au même titre que l'eau, par le mouvement ascendant de la sève dans les vaisseaux.

A l'intérieur des cellules, le sel est alors stocké dans les vacuoles grâce à des systèmes de "pompes" moléculaires. Les vacuoles étant des compartiments fermés au sein de la cellule, le sel est ainsi isolé des constituants cellulaires vitaux (Sentenac et Berthomieu, 2003).

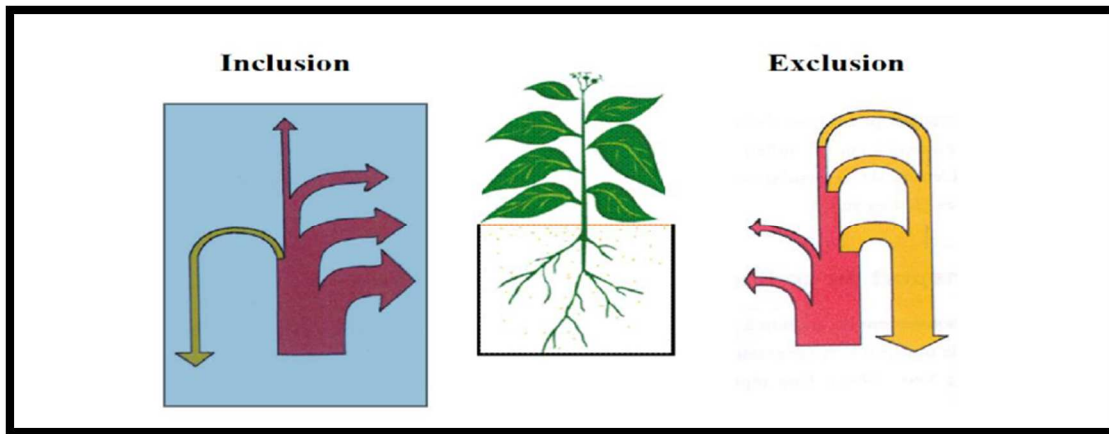


Figure 2: Illustration des mécanismes de tolérances à la salinité, (Levigneron et al, 1995)

au stress salin, les plantes accumulent plus de solutés compatibles qui jouent un rôle important dans la protection des protéines et de la membrane, dans l'ajustement osmotique, et dans le nettoyage des espèces réactives d'oxygène (ROS) et des excès des ions d'ammonium accumulés (Munns et al, 2006) (**Figure2**).

6.3 Mécanismes d'adaptation au stress thermique chez le blé :

Etant les plantes immobiles. Elles doivent s'adapter aux conditions dominantes du sol et de la météo. En réalité, les plantes sont incapables d'adapter la température de leurs tissus. Réciproquement, ces dernières ont mis au point plusieurs mécanismes qui leur permettent de tolérer de plus hautes températures, Parmi les mécanismes de tolérance à la chaleur, on citer :

La transpiration, un mécanisme simple et efficace qui met à profit l'énergie d'évaporation de l'eau pour refroidir les feuilles. La fermeture des stomates provoque des augmentations de température de plusieurs degrés.

Le métabolisme C4 : Avec l'élévation de la température, la solubilité du CO₂ diminue plus vite que celle de l'O₂. Le « gaspillage » énergétique que représente l'activité oxygénase de la Rubisco est accentué. Les mécanismes de concentration du CO₂ dans les plantes en C4 (blé) permettent d'éviter cette contrainte.

La modulation des proportions en acides gras membranaires saturés/insaturés, en particulier dans les membranes chloroplastiques, passe parmi les mécanismes majeurs d'acclimatation et d'adaptation aux températures extrêmes. Une forte proportion d'acides gras saturés dans les lipides membranaires aura tendance à apporter de la stabilité sous une contrainte chaleur.

7) le blé dur (*Triticum durum*), répartition géographique et origine

7.1 Origine géographique et génétique du blé dur :

7.1.1 Origine géographique :

Le blé sauvage tétraploïde était largement répandu au Proche-Orient, où les humains ont commencés à le récolter dans la nature (Bousnane, 2012), La plupart des recherches archéologiques ont confirmé que les origines du blé se situent dans les zones du Croissant fertile (Boulal et al, 2007) plus précisément au sud de l'Anatolie et au nord de la Syrie. C'est à partir de cette zone que le blé a été diffusé vers l'Afrique, l'Asie et l'Europe.

La route la plus ancienne de diffusion des céréales vers les pays du Maghreb fut à partir de la péninsule italienne et de la Sicile (Bonjean., 2001), certain auteurs affirment que le monde Romain a largement contribué à la diffusion des céréales du bassin méditerranéen vers l'Europe centrale et l'Europe de l'Ouest.

7.1.2. Origine génétique :

L'origine génétique du blé dur remonte au croisement entre deux espèces ancestrales *Triticum monococcum* et une graminée sauvage du nom *Aegilops speltaoides*, Le blé dur *Triticum durum*, appelé ainsi en raison de la dureté de son grain. Le nombre chromosomique de base est de $2n = 4x = 28$, (donc fait partie du groupe des espèces tétraploïdes).

le croisement naturel de *Triticum monococcum* (porteur du génome A) \times *Aegilops speltaoides* (porteur du génome B) a permis l'apparition d'un blé dur sauvage de type AABB (*Triticum turgidum ssp.dicoccoides*) qui a ensuite progressivement évolué vers *Triticum turgidum ssp.dicoccum* puis vers *Triticum durum* (blé dur cultivé) (Feillet.,2000) (**Figure.3**).

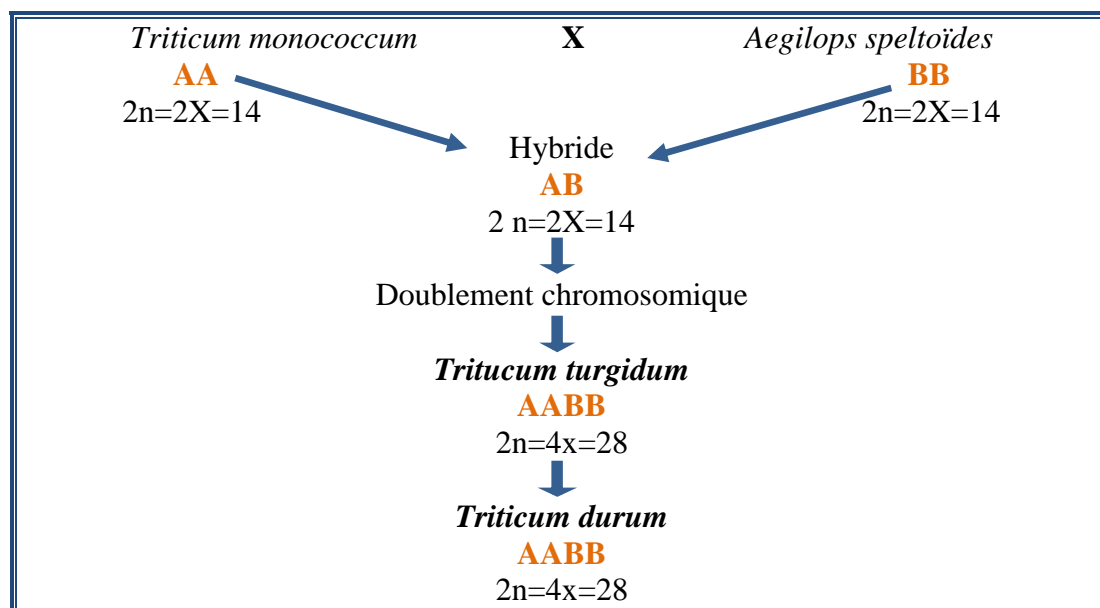


Figure 3: Origine génétique du blé dur (Debiton, 2010)

7.2 Classification botanique et description morphologique du blé dur :

Le blé dur est une espèce connue depuis la plus haute antiquité, appartenant au groupe des céréales à paille. C'est une plante annuelle de la famille des poacées (Tableau.1). En termes de production commerciale et d'alimentation humaine, cette espèce est la deuxième plus importante du genre *Triticum* après le blé tendre. Leur famille comprend 600 genres et plus de 5000 espèces (Feillet, 2000).

Tableau 1 : Classification botanique du blé dur (Feillet, 2000).

Embranchement	Spermaphytes
S /Embranchement	Angiospermes
Classe	Monocotylédones
Ordre	Poales
Famille	Poaceae
Genre	<i>Triticum</i>
Espèce	<i>Triticum durum Desf</i>

Le blé dur se reconnaît à sa couleur jaune et son amande est plus dure que celle du blé tendre. D'une façon générale, le blé dur se caractérise par :

- **Un épi** à rachis solide, à glumes carénées jusqu'à leur base, à glumelle inférieure terminée par une longue barbe colorée.
- **Un appareil végétatif** à tallage faible (souvent un seul épi par plante), à chaume long et souple, sensible à la verse.
- **Une graine** très épaisse (45-60 mg) et constitué principalement, elle est principalement constitué d'amidon environ 70%, de protéines 10-15% selon les variétés et les conditions de culture et de pentosanes 8 à 10%, les autres constituants, pondéralement mineurs, sont les lipides, la cellulose, les sucres libres, les minéraux et les vitamines. Ces constituants se répartissent de manière inégale au sein de la différente fraction histologique du grain.

7.3 Importance et production du blé dur:

7.3.1 Dans le monde :

Historiquement c'est une des premières céréales cultivées dans le monde avec une production annuelle d'environ 600 millions de tonne.les échanges qui se multiplient entre les régions du monde font de cette céréale l'un des principaux acteurs de l'économie mondiale. Elle est l'une des céréales les plus cultivées et les plus consommées dans le monde.

Selon les dernières prévisions, la production mondiale de blé en 2015 devrait atteindre un niveau record de 735 millions de tonnes, soit près de Deux millions de tonnes de plus qu'en 2014, en raison principalement d'une production accrue en Australie, en Chine, au Maroc, en Turquie, en Ukraine et aux États-Unis. (FAO. A, 2015).

Les stocks mondiaux, à la clôture des campagnes de 2016 (Tableau.02), devraient atteindre leur plus haut niveau depuis 13 ans. Sur la base des prévisions actuelles, le rapport stocks mondiaux-utilisation en 2015/16 devrait s'établir à 29%, son plus haut niveau depuis 2011/12. L'UE, la Fédération de Russie et les États-Unis font partie des pays où les réserves devraient croître le plus. En revanche, au Canada, où la production a fortement reculé cette année, les stocks de clôture devraient se réduire à leur plus bas niveau historique. (FAO. B, 2015 in Gueraiche, 2016).

Tableau2 : Le marché mondial du blé (FAO, 2016)

Marché mondial du blé						
	2012/13	2013/14	2014/15	2015/16 estimation	2016/17 prévision	
					précédente (07 avr 2016)	dernière (05 mai 2016)
(..... millions de tonnes))						
Production¹	655.1	710.8	729.5	732.9	712.7	716.9
Disponibilités²	850.6	882.5	910.8	931.9	917.2	920.2
Utilisation	683.4	692.1	711.3	723.4	722.8	724.1
Commerce³	143.0	156.5	155.6	153.0	153.0	154.0
Stocks de clôture⁴	171.7	181.4	199.0	203.3	193.7	195.2
(..... pour cent))						
Rapport stocks mondiaux- utilisation	24.8	25.5	27.5	28.1	26.0	26.2
Rapport stocks des princi- paux exportateurs- utiliza- tion totale⁵	14.1	14.1	16.6	18.2	17.2	18.2

7.3.2 En Algérie :

La céréaliculture constitue en Algérie la principale activité et le blé dur occupe une place centrale dans l'économie Algérienne. Il couvre la moitié de la surface consacrée à cette activité. La production algérienne de blé dur est très instable d'une année à l'autre. (Mazouz et al, 2006)

La cause principale de la faiblesse de la production du blé dur en Algérie est le faible niveau de productivité obtenu, soit 9 à 11 quintaux/hectare. Cette faible productivité est due à des contraintes abiotiques (pluviométrie surtout), biotiques (adventices, surtout) et humaines (itinéraires techniques appliqués etc...).

Les céréales et leurs dérivés constituent l'épine dorsale du système alimentaire algérien et elles fournissent plus de 60% de l'apport calorifique et 75 à 80% de l'apport protéique de la ration alimentaire. (FAO. B., 2015) .Si la production nationale de blé a dépassé la barre d'un million de tonnes plusieurs fois depuis l'indépendance, elle demeure tout de même loin du niveau réel de la consommation qui a augmentée progressivement avec la croissance démographique.

7.4 Exigences climatiques du blé :

Pour être fructueux, la production des céréales nécessite une connaissance accrue du développement de la culture. Les facteurs climatiques ont une réaction prédominante de la culture sur les différentes périodes de la vie du blé (Djermoun, 2009). parmi ces facteurs on cite principalement :

➤ **L'eau :**

L'eau est un facteur limitant de la croissance du blé .ce derniers exige l'humidité éternelle durant tout le cycle de développement. Pendant les différentes phases de son cycle, le blé a besoin de 600 à 1.500 mm d'eau par an et surtout bien répartie. Les besoins sont plus élevés au vu des conditions climatiques défavorables.

➤ **Lumière :**

La lumière est le facteur qui agit directement sur le bon fonctionnement de la photosynthèse et le comportement du blé.un bon tallage est garanti, si le blé est placé dans les conditions optimales d'éclairement.

➤ **La température :**

Température est l'un des facteurs importants pour la croissance et l'activité végétative. Le zéro de germination du blé est comme celui du blé tendre très voisin de 0 °C. Les exigences en température sont assez importantes et varient entre 1800 et 2400 °C selon les variétés.

*Matériel et
méthodes*

1) Matériel végétal :

Le matériel végétal utilisé dans le présent travail est constitué de deux variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.) Waha et Bousselem, ces deux derniers ont été fournis gracieusement par l'Institut Technique des Grandes Cultures (ITGC) d'EL-Khroub Constantine.

Tableau 3: Les caractéristiques agronomiques morphologiques, culturales et qualitatives des deux variétés expérimentées (Boufenar et al, 2006)

	Waha	Boussalem
Caractéristique morphologique :		
▪ Hauteur de la plante à la maturité	80-90 cm	120 cm
Caractéristiques culturales :		
▪ Cycle végétatif	Précoce	Mi-tardif
▪ Résistance :		
- Au froid	Tolérante	Bonne
- A la verse	Résistante	Bonne
- A la sécheresse	Sensible	Bonne
- Egrenage	résistante	résistante
Caractéristiques qualitative :		
▪ Poids de mille grains (PMG)	Moyen	Elevé
▪ Qualité semoulière	assez bon	Blé correcteur
Pedigree	Plc/Ruff//Gta/Rtte	CroICD414BL CTR4AP (Heider/Marli/Heider)
Origine	Syrie CIMMT (introduite)	Algérie (locale)

2) Mise en place de l'expérimentation :

L'expérience a été conduite au Laboratoire de génétique, biochimie et de biotechnologie végétale (GBBV) équipe 2 Biotechnologie et Amélioration des Plantes à Chaabat EL Rasses au niveau de l'Université des Frères Mentouri Constantine1, au cours de la période 2016-2017

3) Conduite de l'essai et stade de mesure :

L'expérimentation est conduite dans la chambre de culture, elle consiste à étudier de l'effet du stress abiotique (hydrique, salin et thermique) sur la teneur totales en protéines chez deux génotypes de blé dur (*Triticum durum* Desf.) dans un milieu hydroponique tout en respectant une photopériode de 16hJ/8hN en appliquant trois différents stress : hydrique par l'ajout du PEG, le stress thermique à une température haute (45°C) et le stress salin en ajoutant du NaCl à 200Mm, ces trois stress sont appliqués pendant 4h .

L'étude de l'effet de ces trois stress sur les deux variétés de blé dur a été réalisée sur la troisième feuille après l'obtention de la quatrième feuille.

4) Le plan expérimental :

4.1 Pré germination des graines :

Les graines choisies ont été sélectionnées selon leur taille et leur forme, 100 graines des deux génotypes ont été stérilisées et désinfectées à la solution d'hypochlorite de sodium (NaOCl) à 70% contenu dans l'eau de javel pendant 10 minutes puis rincées trois fois à l'eau distillée stérile, une fois le rinçage est effectué, on laisse les graines pendant 2h dans de l'eau distillée pour le gonflements.

Les graines sont ensuite mises dans des boites tapissées par trois couches de papier absorbant humecté à l'eau distillée pour la pré-germination pendant une semaine à l'obscurité et à température ambiante du laboratoire.



Figure4: dispositif de pré-germination des graines des deux variétés étudiées

4.2. Germination des graines et mise en culture hydroponique :

▪ *Préparation de la solution nutritive :*

Ce présent travail s'est basé essentiellement sur une culture de plantes hors sol, cette culture dite hydroponique consiste à émerger la partie racinaire de la plante dans un milieu chimique, ce mode de culture, a été choisi car il permet : un meilleur contrôle et une meilleur homogénéisation de l'apport minéral, L'obtention de racines saines, indemne de toute perturbation pouvant interférer avec la réponse propre des plantes (Dubos., 2001), et permet aussi d'éviter les contraintes du sol, ce qui permet une croissance rapide et un bon développement des plantes dans des conditions totalement contrôlées.

En culture hydroponique, on doit tout d'abord germer les plantes jusqu'à obtention des racines pour pouvoir apporter les éléments minérales qui se trouvent au niveau de la solution nutritive. Pour tous les avantages apportés par cette culture, on a choisi le milieu BD (Broughton et Dillworth) qui est constitué d'une quantité précise de macroéléments, microéléments et du fer dissouts dans un volume d'eau déterminé pour satisfaire les besoins des plantes. Pour la préparation du milieu de culture, nous avons utilisé des solutions mères

préalablement préparées avec des concentrations connues et une date de conservation précise. (Annexe.01)

▪ **Dispositif de l'essai :**

Dans deux grands bacs en plastique, des pots remplis de sable ont été placés dans ceux-ci, émergés ensuite dans une solution nutritive BD. Nous avons effectué dans ces derniers, le repiquage de nos jeunes plantules à raison de 4 plantes par pot et 20 pots par variété dans chaque bac.

La solution nutritive a été renouvelée entièrement une fois par semaine pendant 15 jours ensuite renouvelée chaque deux jours, afin d'éviter un éventuel appauvrissement en éléments minéraux, des variations de pH et le développement de pathogènes tout en assurant un milieu riche en nutriments qui conduit à un bon développement des plantules.

La croissance des plantules s'est faite en chambre de culture avec une température de $25^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$, une humidité relative de $70 \pm 5\%$ et une photopériode de 16h de lumière par 8h d'obscurité.



Figure 5 : Culture Hydroponique des graines pré-germées dans la chambre de culture

4.3. Répartition des plantules et stress appliqués :

Les plantules provenant des graines germées, atteignant le stade de l'apparition de la quatrième feuilles et le développement de la troisième feuille, qui correspond à la cinquième semaine de culture ont été réparties en 4 lots:

- **Premier lot :** Représente le témoin qui regroupe les plantules qui sont maintenues en solution nutritive et à température ambiante (25°C).
- **Deuxième lot :** Représente les plantules du stress hydrique.
- **Troisième lot :** Représente les plantules du stress salin.
- **Quatrième lot :** Représente les plantules du stress thermique.

- **Application du stress hydrique :**

- **Le polyéthylène glycol PEG- 6000**

L'étude de l'effet du stress hydrique et les modifications qu'il induit au niveau de la plante a été réalisée par ajout d'un osmoticum à la solution du milieu BD. L'osmoticum utilisé est le polyéthylène glycol (PEG 6000).

Le PEG est un polymère de grand poids moléculaire, non ionique, hydrosoluble et non pénétrant pour les cellules (Chefdor, 2006), Il induit un déficit hydrique, en agissant comme un agent osmotique abaissant le potentiel de l'eau d'une manière relativement contrôlée, semblable à un séchage du sol (Oukarroum, 2007). Il réduit la disponibilité en eau sans causer de dommage physique aux plantes.

La pression osmotique générée est en fonction de la concentration et du poids moléculaire du PEG utilisé, En effet ce polymère se présente sous forme d'une large gamme de poids moléculaires allant de 300 à 20.000, ceux dont le poids moléculaire est de 6000 voire 8000 sont préférablement et plus fréquemment utilisés, Le PEG 6000 utilisé ne nécessite pas de purification avant utilisation, sa masse molaire est suffisamment élevée pour limiter l'absorption racinaire, tout en préservant la fluidité de la solution nutritive, effectivement c'est un osmoticum idéalement utilisable en milieux hydroponiques.

- **La préparation de la solution PEG et le protocole expérimentale:**

La solution de PEG est préparée en faisant dissoudre la quantité de PEG 6000 « 400g » dans deux litres d'eau distillée, Cette expérience est réalisée avec un seul niveau de stress hydrique représentant un stress sévère pendant 4h, la conception expérimentale est avec trois répétitions pour chaque variété.

- **Application du stress salin :**

L'influence du stress salin sur les deux variétés de blé choisi est examinée par l'ajout de 200 mM de NaCl, donc on fait dissoudre 23.28g de NaCl dans deux litres d'eau distillée

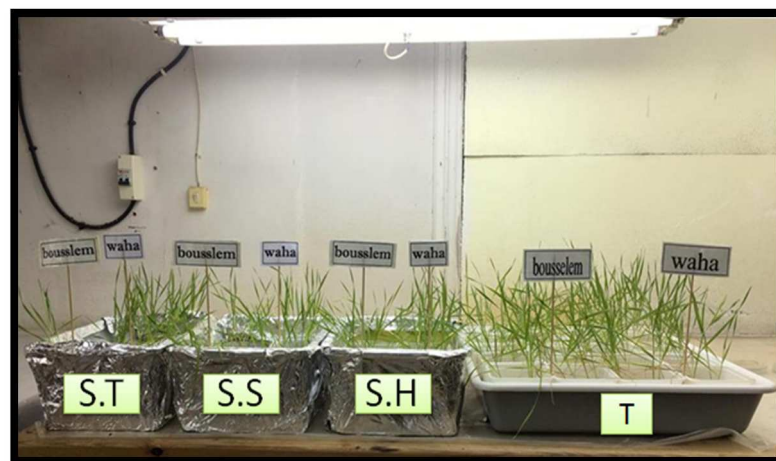


Figure 6 : Application du stress.

- **Application du stress thermique :**

L'effet des hautes températures et les modifications qu'elles apportent au niveau du végétal ont été effectués au phytotrome où les plantes étaient exposées à une température de 45°C pendant 4 heures, en laissant les mêmes conditions d'humidité avec la solution nutritive

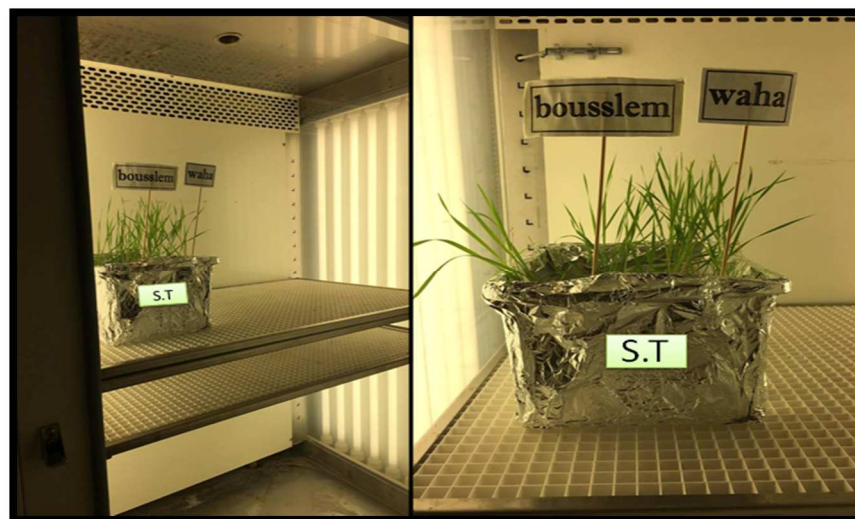


Figure 7: Dispositif de l'essai du stress thermique.

5) Les paramètres étudiés :

Le suivi du comportement des deux génotypes du blé dur vis-à-vis des différents stress a été basé sur plusieurs paramètres physiologiques et biochimiques.

5.1 Paramètres physiologiques :

5.1.1 Teneur relative en eau (TRE%) :

La teneur relative en eau (TRE) est déterminée d'après la méthode de Barrs (1968), elle consiste à évaluer la tolérance à la sécheresse et cela en état de déficit hydrique.

Selon cette méthode, L'avant dernière feuille de chaque plantule de chaque variété du blé dur avec trois répétitions, est prélevée puis pesées immédiatement pour obtenir leur poids frais (PF). Ces feuilles sont mises par la suite dans des tubes à essai remplis à moitié d'eau distillée et placés à l'obscurité dans un endroit frais, après 24h les feuilles érogées d'eau sont retirées, passées dans un papier buvard pour absorber l'eau de la surface, et pesées à nouveau pour obtenir le poids de la pleine turgescence (PT), Les échantillons sont enfin mis à l'étuve ventilée régler à 85°C pendant 48h et pesés pour avoir leur poids sec (PS).

La teneur relative en eau est calculée par la formule suivante (la formule de Clark et Mac-Caig, 1982) :

TRE : teneur relative en eau, **PF:** Poids frais, **PS:** Poids sec, **PT :** Poids à la turgescence

$$TRE (\%) = 100 \left[\frac{(PF - PS)}{(PT - PS)} \right]$$

5.1.2. La conductivité électrolytique (CE%) :

Le degré de dommage membranaire causé par l'application de stress, a été indirectement évalué en mesurant la conductivité électrolytique, celle-ci est inversement proportionnelle à la stabilité membranaire cellulaire (Farooq et Azami., 2001)

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

Ce test de l'intégrité cellulaire (IC%) a été réalisé selon la méthode décrite par (Dkhil et Denden, 2012).

Trois feuilles (3iém feuilles) sont prélevées au hasard par traitement, par répétition et par variété. Elles sont lavées à l'eau déminéralisée afin d'enlever tout résidu ou électrolytes pouvant adhérer à la surface, découpées ensuite en segments de 1cm de long. Les échantillons sont recueillis dans des tubes à essai auxquels sont ajoutés dix ml d'eau distillée, ces derniers ont été maintenus pendant 24h à température ambiante du laboratoire 25°, dès que ces 24h sont écoulées, on mesure la première valeur de la conductivité électrique (CE1) grâce à un conductimètre en plaçant délicatement la sonde dans le tube après étalonnage de l'appareil. La seconde lecture de la conductivité électrique (CE2) est notée 24 heures après la première lecture et après avoir passé les échantillons à l'autoclave, et refroidi par la température ambiante du laboratoire

Le pourcentage de cellules endommagées (CE%) est estimée sous l'effet de l'augmentation de la température en utilisant la formule suivante :

$$CE (\%) = (CE1 / CE2) \times 100$$

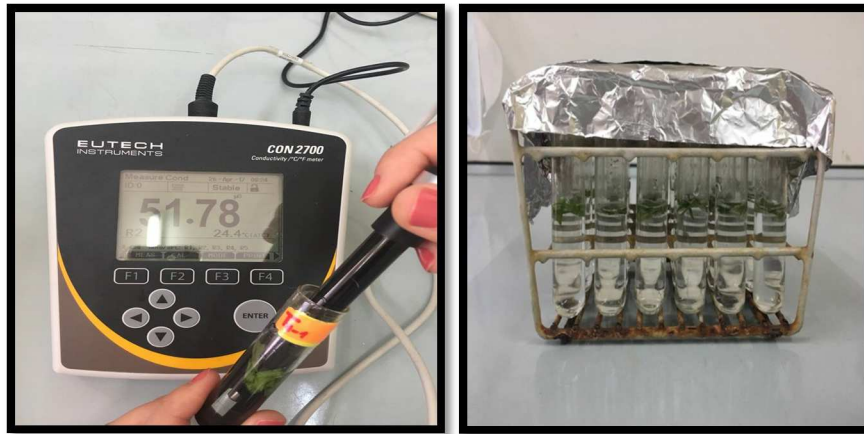


Figure 8 : mesure de l'intégrité membranaire par un conductimètre

5.1.3 La température foliaire ($TF^{\circ}C$):

La température d'une surface végétale figure au rang des paramètres physiologiques les plus utilisés pour la connaissance du statut hydrique de la plante. C'est la méthode de détection du stress hydrique par télédétection la plus répandue. Elle entre dans la composition de plusieurs indices de détection du stress hydrique (Moran, 2000). La température foliaire donne à chaque point de la végétation observée la température qui lui est associée.

La mesure de la température foliaire a été faite à l'aide d'un thermomètre infrarouge portatifs (Figure.9). le thermo est maintenu de manière à pouvoir détecter la température de la feuille uniquement, en évitant de sonder la température d'autre surface. Les mesures sont effectuées sur la feuille non détachée.



Figure 9: mesure de la température foliaire par le thermomètre infrarouge portatif

5.1.4 La résistance stomatique (R_s «S/CM») :

La photosynthèse et la transpiration sont deux processus végétaux très importants contrôlés par les stomates. En fait la conductance stomatique est directement liée aux échanges gazeux entre la feuille et l'atmosphère et sa régulation est déterminante pour l'adaptation des plantes à contraintes environnementales et notamment en situation stressante.

La résistance stomatique au niveau des feuilles a été mesurée à l'aide d'un Poromètre de vapeur d'eau, type Delta Devices, qui a été étalonné en premier lieu avant la lecture. (Fig.10).

L'utilisation de ce système portable muni d'une pince à coupelle affecté d'un détecteur de vapeur d'eau, consiste à insérer la partie médiane de la feuille dans la pince (Herbinger et *al.*, 2002), Les données de la résistance stomatique sont stockées dans l'appareil de mesure et ensuite transférées vers un ordinateur pour leur traitement.



Figure 10: Mesure de la résistance stomatique par le poromètre

5.2 . Paramètre biochimique :

5.2.1. L'analyse des protéines totales par SDS-PAGE :

Les protéines sont des molécules qui ont un rôle dans la structure et la fonction de la cellule, on peut les isoler, les analyser et les étudier. La séparation des protéines présente dans notre étude est faite à l'aide d'un gel SDS-PAGE permettant une séparation des protéines dans le gel selon leur poids moléculaire. La technique électrophorèse monodimensionnelle sur gel de polyacrylamide en présence de SDS est réalisée selon la méthode de Laemmli, (1970) citée par (Mouellef, 2010). Une variante de cette technique consiste à utiliser du SDS (Sodium Dodécylsulfate) qui est un détergent anionique fort. Il a la propriété de défaire la structure spatiale en se fixant sur les protéines et de les charger de la même façon permettant ainsi de les séparer uniquement en fonction de leur masse moléculaire. Il donne la charge négative aux protéines (aux chaînes de polypeptides) qui permet la migration des protéines vers l'anode (Dicko, 2006).

Avant de procéder à la dénaturation des protéines avec du SDS, on utilise un agent réducteur, le β -mercaptoéthanol qui réduit les ponts désulfuriques des protéines, les rendant ainsi sous forme monomérique. Le β -mercaptoéthanol coupe et casse les liaisons et les ponts désulfuriques (on peut le remplacer par le DTT). L'acétone fait descendre les protéines au bas et solubilise les molécules organiques comme les acides gras ;...etc. Cette technique permet

de déterminer le poids moléculaire des sous unités formant une protéine, et de se rendre compte du degré de purification atteint à chaque étape. (**Annexe. 02**) (Jangpromma et al, 2007).

✓ **Extraction des protéines totales :**

En commence tout d'abord par peser 100 mg de matériels végétales fraiche, les feuilles des échantillons témoin et stressés seront par la suite broyées avec de l'azote liquide jusqu'à l'obtention d'une poudre fine qui sera conservée dans des tubes eppendorfs à -80°C jusqu'à utilisation.

On ajoute au broyat 1.35 ml de la solution de précipitation (solution A (**Annexe.02**)) homogénéiser dans un tube Eppendorf de 1.5ml et les laissés reposer pendant une nuit à -20°C. Centrifuger pendant 20mn à 4°C et à 13 000 rpm.

Eliminer le surnageant délicatement en renversant le tube (le culot ne doit pas décoller).

Laver les culots avec 1.35 ml de la solution de rinçage (solution B (**Annexe.02**)).

Laisser reposer 1h à - 20°C puis éliminé le surnageant délicatement (on peut faire une petite centrifugation si on voit que le culot s'est un peu décollé).

Sécher les culots dans l'étuve pendant 5 min à 60°C (il ne faut pas qu'ils soient trop secs).

Réduire en poudre les culots (à l'aide d'une baguette en verre).

Peser le culot pour déterminer le poids sec du culot et ajouter 100 à 250 µl (2X) de *Laemmli buffer* (**Annexe.02**).

Passer au vortex les tubes Eppendorf et en mettant dans le bain mari pendant 5 min à 95°C à 100°C, afin de favoriser la dénaturation des protéines.

Centrifuger les tubes Eppendorf à 13 000 rpm pendant 20min.

Récupérer le surnageant dans un nouveau tube et le dépôt conserver les échantillons à -20°C.

✓ **Préparation des gels**

Dans la méthode de séparation par SDS-PAGE nous avons préparé deux types de gels : un gel de séparation qui permet de fractionner les différentes protéines et les sous-unités protéiques selon leurs poids moléculaires et un gel de concentration permettant de retenir les impuretés et de tasser les protéines.

✓ **Le gel de séparation (running gel) :**

La concentration finale d'acrylamide qui a été choisie est de 15 % .Ce gel est constitué d'Acrylamide Bis 30% (p/v), de TrisHCL à pH=8.8, de SDS à 10 % (p/v) et d'eau distillée. La réaction de polyacrylamide est catalysée par l'ammonium persulfate (APS) à 10 % (p/v) et le TEMED. (**Annexe.03**)

On prépare le gel en respectant les mesures et en travaillant en continuité. La polymérisation de ces constituants est catalysée par (APS) et le TEMED, qui sont ajoutés en

derniers. On applique le remplissage du gel par une seringue en plaquant sa queue contre la paroi de la première plaque, et en verse doucement le gel afin d'éviter la formation des bulles d'aires, on s'arrête au niveau marqué (4cm), ce niveau sera rempli par le gel de concentration.

On applique une fine couche de buthanol tout au long du gel, à l'aide d'une seringue, le buthanol aplatira le gel et fera une barrière contre l'air pour accélérer la polymérisation qui prendra 30 à 45 min, et éliminera les bulles d'air à la surface. Quand le gel se polymérise, on verse le buthanol et on rince 3 fois à l'eau distillée.

✓ **Le gel de concentration (stacking gel) :**

La concentration finale d'acrylamide choisie est de 4 %, ce gel et le gel de séparation, ont une même constitution avec pour seule différence le niveau du Tris HCL qui a un pH de 6,8. le gel est déposé sur le gel de séparation, les peignes doivent être bien centrés entre les plaques et sans créer de bulles. Le gel prend effet après 45 à 60 minutes, les peignes sont retirés soigneusement pour ne pas détériorer les puits. Enfin, le tampon est versé dans les puits est on fait les dépôts. (Annexe.03)

✓ **La migration :**

Après le dépôt des différents échantillons, la cuve d'électrophorèse (bac inférieure) est remplie avec un volume suffisant de tampon de migration, composé de glucine, de Tris et de SDS. (Annexe.02).

Ensuite, le bac supérieur situé entre les deux plaques (bien serré contre les joints pour éviter les fuites) est rempli lui aussi avec le même tampon jusqu'à ce que les faces supérieures des gels soient immergées. Cette dernière placée dans la cuve d'électrophorèse pour que les faces inférieures des gels plongent dans le tampon. Enfin, la cuve est fermée et reliée à un générateur qui va assurer le passage du courant électrique. la migration doit être réglée sous une tensions déterminée à 200v et une intensité déterminée à 60mA. (Figure.11)

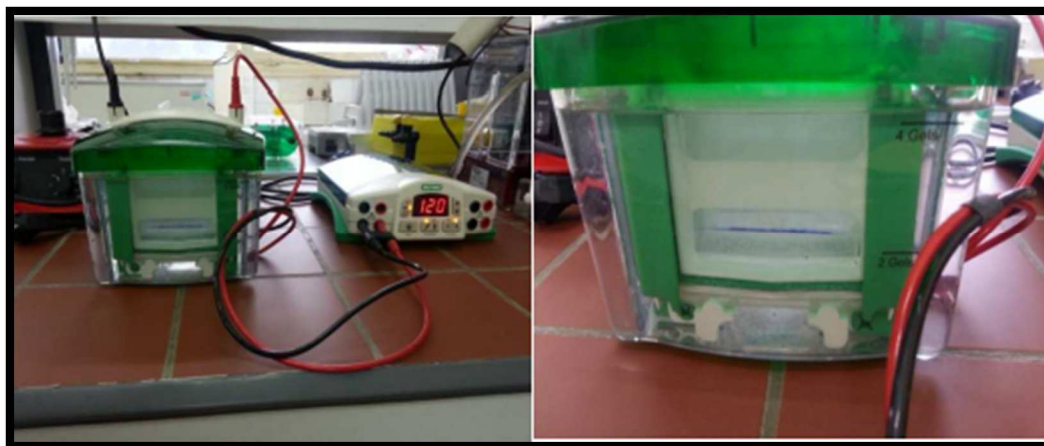


Figure 11 : La migration des protéines totales sur gel d'acrylamide

✓ Coloration et décoloration :

Après la sortie du front de migration, le gel de concentration est éliminé, les gels sont démoulés et mis dans le bac contenant une solution de coloration qui contient un fixateur de protéines, le TCA (acide trichloracétique) à 60 % et un colorant, le bleu de coomassie R250 et d'eau distillée. Recouvrir les gels de solution de coloration, placer les sur l'agitateur pendant 24h, afin d'homogénéiser la coloration, puis décolorer les gels avec de l'eau et ils seront prêts à la lecture. (Annexe.02)

6) Traitement des données et statistique:

Afin de pouvoir caractériser les différences existant entre les variétés étudiées concernant les différents paramètres mesurés, nous avons calculé que certains paramètres statistiques ainsi que les moyennes et la conception des graphiques à l'aide du tableur « Excel STAT » version 2009 pour Windows.

En ce qui concerne l'analyse des protéines totales par SDS-PAGE, le gel obtenu a été traité par logiciel « Photocapt8 » qui permet une bonne visualisation des bandes ainsi que le calcul de leur poids moléculaire en fonction du marqueur du poids. La présence des bandes est codée par « 1 » et leur absence par « 0 ».

L'Analyse de la variance « ANOVA » à deux facteurs de classification ont été utilisés, le facteur variété, facteur traitement ont été réalisés par l'utilisation d'un logiciel spécifique « Excel 2015 » en utilisant le test de TUKEY (HSD).

*Résultats et
discussion*

1. Analyse de la teneur relative en eau (TRE %) :

La teneur en eau relative est souvent considérée comme un excellent indicateur de l'état hydrique de la plante, une signification physiologique qui permet de mettre en évidence l'état de la balance hydrique de la plante.

Ce paramètre est affecté par plusieurs contraintes abiotiques, dans notre étude on a testé trois différents stress, à savoir un stress thermique, un stress salin et un stress hydrique.

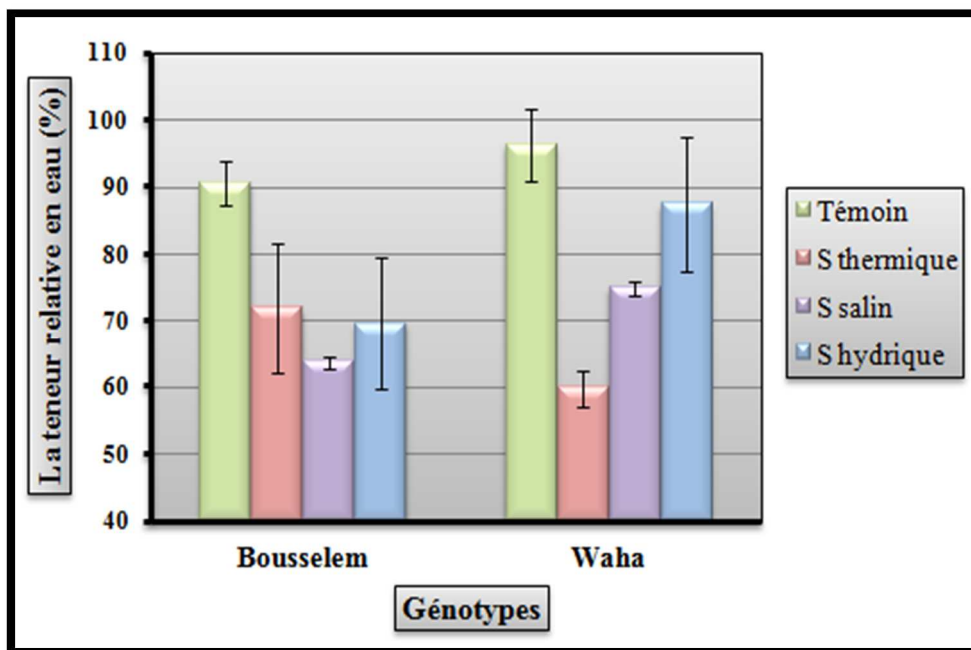


Figure12 : Variation de la TRE(%) des deux variétés de blé dur étudiées soumises aux trois traitements de stress abiotique (stress Th, stress S et stress H) pendant 4h.

D'après (la Figure13) on remarque que la TRE au terme de 4h, demeure très importante chez les témoins des deux géotypes étudiée (Bousselem et Waha), variant entre 90% comme valeur minimale chez Bousselem et entre 96% comme valeur maximale chez Waha.

En revanche, elle diminue fortement chez ces deux dernières lorsqu'elles sont soumises aux trois différents stress (Thermique, salin et hydrique), cette diminution reste beaucoup plus accentuée pour la variété Bousselem, aussi bien dans le stress salin que le stress thermique et par opposition pour la variété Waha.

Effectivement, le contenu hydrique des feuilles subit une chute significative dans le cas de stress thermique avec un taux de 19% par rapport au témoin chez la variété Bousselem et un taux de 37% chez la variété Waha.

Dans le cas de stress salin on note une réduction de 27% du contenu en eau chez la variété Bousselem et une réduction de 22% chez la variété Waha face au témoin.

En ce qui concerne le stress hydrique on constate une diminution de la TRE de 21% chez la variété Bousselem et un abaissement de 9% chez la variété Waha devant leurs témoins.

Mais d'une manière générale cette diminution n'est pas trop forte, la moyenne de la TRE chez les deux variétés soumises au trois stress varie de 60% jusqu'à 87% ce qui représente un statu hydrique bien maintenu.

Les résultats sont vérifiés par le test statistique à l'aide de l'analyse de la variance et la comparaison des moyennes de la TRE, qui fait ressortir des différences très hautement significatives pour l'effet traitement ($p < 0.001$), et hautement significative pour l'effet génotypes et l'interaction entre traitement et génotypes ($p < 0.01$).

Tableau.4 : L'annova TRE obtenues à partir des trois stress abiotiques appliqués aux deux variétés de blé dur.

Source	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
traitement	3	5332,441	1777,480	33,057	< 0,0001****
génotypes	1	374,783	374,783	6,970	0,018**
traitement*génotypes	3	827,547	275,849	5,130	0,011**

*) Effet significatif $p < 0.05$ **) effet hautement significatif $p < 0.01$ ***) effet très hautement significatif $p < 0.001$

Selon le test TUKEY au seuil de 95%, dont il a fait une comparaison multiple pour la variable traitement, a fait ressortir des différences significatif entre tous les interactions de traitement sans prendre en considération le génotype, à l'exception de l'interaction entre le stress hydrique*salin, stress salin*thermique, dont la différence était non significatif

Tableau.5 : Comparaison des moyennes des différents traitements de la TRE.

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Pr. > Diff	Significatif
Témoin ~ S thermique	38,100	8,999	2,861	< 0,0001	Oui
Témoin ~ S salin	34,633	8,180	2,861	< 0,0001	Oui
Témoin ~ S hydrique	25,424	6,005	2,861	< 0,0001	Oui
S hydrique ~ S thermique	12,676	2,994	2,861	0,039	Oui
S hydrique ~ S salin	9,209	2,175	2,861	0,172	Non
S salin ~ S thermique	3,468	0,819	2,861	0,845	Non

Valeur critique du d de Tukey : 4,046

Ce même test classe le facteur traitement en 4 groupe homogènes, dont le premier groupe A correspond au témoin avec une moyenne maximale de 93%, le deuxième groupe B présente le stress hydrique avec une moyenne de 78.58%, le troisième groupe BC porte le stress salin

avec une moyenne de 69.37%, quant au quatrième et dernier groupe, renferme le stress thermique avec une moyenne minimale de 65.90%.

Tableau.6 : Classement des traitements sous trois groupes non significativement différents pour la TRE

Modalités	Moyenne	Regroupements		
Témoin	93,000	A		
S hydrique	78,580		B	
S salin	69,372		B	C
S thermique	65,904			C

Le Test DUNETT nous a permis de faire la comparaison entre les trois stress et le contrôle témoin avec un intervalle de confiance à 95%, et de constater que ces trois interactions étaient significatives dans les deux variétés, autrement dit les deux variétés étudiées dans des conditions optimales ne répondent pas de la même façon envers les trois stress appliqués.

Tableau.7 : Comparaison des trois traitements appliqués avec le témoin pour la TRE

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Différence critique	Significatif
S hydrique ~ Témoin	-25,424	-6,005	2,592	10,975	Oui
S salin ~ Témoin	-34,633	-8,180	2,592	10,975	Oui
S thermique ~ Témoin	-38,100	-8,999	2,592	10,975	Oui

Le test Tukey a réalisé aussi une comparaison multiple pour la variable génotypes (Waha et Bousselem). Ce dernier a trouvé une différence significative entre les deux génotypes étudiés (Waha et Bousselem), et il a classé ces deux dernières en deux groupes distincts : le groupe A avec une moyenne maximale de 83.42 et le groupe B avec une moyenne minimale de 75.51 respectivement toujours avec un intervalle de confiance à 95,00 %. Cela implique que les variétés étudiées réagissent différemment au stress.

Tableau.8 : Comparaison des deux variétés étudiées pour la TRE

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Pr. > Diff	Significatif
Waha ~ Bousselem	7,903	2,640	2,120	0,018	Oui

Tableau.9 : Classement des variétés sous deux groupes non significativement différents pour la TRE.

Modalités	Moyenne	Regroupements	
Waha	83.417	A	
Bousselem	75.513		B

La comparaison de l'évolution de la turgescence relative en eau des deux variétés de blé dur (Waha et Bousselem) a montré que les trois stress entraînaient une chute du pourcentage d'eau (TRE) présent au niveau des feuilles. Cette chute varie d'un stress à un autre et selon le génotype, ce qui a été confirmé par l'analyse statistique, ces résultats sont conformes avec ceux obtenus par (Achour, 2015).

En effet, la TRE constitue un indicateur clé du degré d'hydratation des cellules et des tissus, ce qui est cruciale pour un bon fonctionnement physiologique et une croissance optimum (Silva et al, 2007). Cette mesure du statut hydrique de la plante reflète son activité métabolique tissulaire. Elle est considérée comme l'un des indexes de tolérance à la déshydratation le plus utilisé et le plus significatif (Melloul et al, 2014).

Il est évident que les génotypes stressés montrent une diminution variable de la TRE ; cette variation génotypique pourrait être attribuée à des différences dans le pouvoir d'assimilation de l'eau par le système racinaire, à leur pouvoir de contrôle des pertes d'eau par les surfaces élaboratrices, Ou dans le pouvoir d'ajustement osmotique servant au maintien de leur turgescence cellulaire et de leurs activités physiologiques (Bouakez et Hamadouche 2015).

La diminution de ce paramètre s'explique par l'état de choc que les plantes ont subi lors de leur exposition à une haute température (45°C). Elles réagissent donc activement par l'ouverture et la fermeture des stomates afin de réduire au maximum la perte d'eau par évapotranspiration (Zegrari 2014).

La salinité représente l'un des principaux stress abiotiques limitant la croissance et la productivité des plantes, selon les résultats obtenus la TRE dans les feuilles des deux plantes testées, est réduite lorsqu'elles sont soumises à des concentrations élevées en NaCl (200mm). En effet, Selon (Achour ,2015), les sels affectent toutes les parties de la plantes et sont plus perceptibles sur les feuilles, cette sensibilité foliaire s'accroît selon le type de génotype.

Certain auteurs tel que (Ouhaddach et al,2015), ont suggéré que la présence d'une dose élevée en NaCl entraîne une diminution de l'hydratation des tissus, Ceci peut être dû à la toxicité des ions Na⁺ et/ou Cl⁻ accumulés dans le cytoplasme à des niveaux dépassant la capacité de compartimentage dans la vacuole, L'accumulation de ces ions, serait le paramètre le plus impliqué dans le flétrissement et la mortalité de certaines espèces.

Dans les zones arides et semi-arides, la contrainte saline est souvent associée au déficit hydrique, ce qui a été confirmé par nos études statistiques. Le stress salin induit des changements au niveau du statut hydrique de la plante, Ce processus conduit alors à un dessèchement des feuilles , une diminution du contenu relatif en eau des feuilles suite à la perte d'eau cellulaire ,une réduction générale de la croissance, la transpiration, et la perturbation de l'homéostasie cellulaire (Ouhaddach et al,2015).

Le manque d'eau est un élément déterminant pour la croissance des plantes, particulièrement en région arides et semi arides. Il induit chez les plantes stressées une diminution du contenu moyenne en eau, (Amoumen et Benherbiche ,2013) ce qui est conforme avec nos résultats et pour les deux variétés étudiés (Waha et Bousselem), effectivement, dans la présente étude, l'application d'un stress hydrique par l'ajout du PEG6000 à 20%, a induit chez les deux variétés (Waha et Bousselem) une réduction de la TRE foliaire d'autant plus différent selon les variétés.

Ces résultats sont corroborés par ceux rapportés par d'autres investigations à savoir que ; la contrainte hydrique entraîne une diminution significative de la TRE. Une réduction qui va dépendre de la sensibilité du génotype vis-à-vis du stress (Hamla 2016).

D'après les résultats obtenus, on remarque que les variétés du blé dur montrent une capacité appréciable de sauvegarder l'eau dans les feuilles en condition des trois stress abiotiques (thermique, salin et hydrique) ainsi qu'une similitude dans la réponse face à ces trois stress, Cela s'explique par une fermeture des stomates dès la rencontre du stress afin de réduire les pertes d'eau tout en maintenant un état de turgescence parfait des cellules (Bousba et *al* ,2013), En effet, La réduction de l'ouverture des stomates réduit l'évapotranspiration et augmente la résistance des plantes face aux contraintes abiotiques, certains auteurs annonce que l'ABA est responsable du déclenchement de la fermeture stomatique (Hamla2016).

Ainsi, pour garder le potentiel de turgescence aussi élevé que possible, après la chute de la TRE dans les feuilles, les deux variétés ont accumulé certains osmotocums à l'intérieur de leurs cellules. Certains auteurs tels que (Biancucci et *al* ,2017)affirme que ces osmotocums à de fortes concentrations agisse comme soluté pour l'ajustement, Cette osmorégulation peut être liée à l'accumulation des métabolites tels que les sucres, les déhydrines , la proline, entraînant ainsi un ajustement osmotique comme réponse à la chute du potentiel osmotique (Sassi et *al* , 2012), ce mécanisme se traduit par une plus grande capacité d'attraction et de rétention des molécules d'eau permettant aux cellules de maintenir leur pression hydraulique, laquelle conditionne leur fonctionnement.

La diminution de la TRE est plus rapide chez les variétés sensibles que chez les variétés résistantes donc les génotypes qui maintiennent une TRE élevée dans la présence de stress sont des génotypes tolérants (Mouellef, 2010), En effet, Certaines variétés possédant une meilleure capacité à préserver leur statut hydrique et à limiter les pertes de leur turgescence, ce qui leur confère une meilleure aptitude à tolérer le stress, Cependant ceci est clairement observable dans (la figure13)qui montre que la variété Waha en présence de PEG, son statut hydrique n'a pas trop diminuer par rapport à son témoin .

La conclusion d'après de nombreux travaux qui ont été réalisés, ainsi que nos résultats, converge souvent vers la diminution de la TRE en présence d'une contrainte abiotique assavoir : hydrique, saline et thermique. Et que plus le génotype est tolérant au stress, plus il tend à maintenir des TRE élevées en conditions déficitaires (Parwata et al, 2013).

2. Analyse de la conductivité électrolytique (CE%) :

Les membranes cellulaires peuvent constituer l'une des premières cibles affectées par le stress chez les plantes, d'où la grande importance de la notion de stabilité membranaire, le degré de dommage membranaire peut être estimé indirectement en mesurant le taux d'électrolytes cellulaires, celui-ci se trouve être inversement proportionnel à la stabilité ou l'intégrité membranaire d'où une corrélation négative entre eux, La variation des taux d'électrolytes sous différents stress, apporte une information complémentaire sur le comportement des variétés vis-à-vis ces contraintes (Bentahar 2017).

Les résultats obtenus indiquent que globalement le pourcentage de fuite d'électrolytes, autrement dit la conductivité électrolytique augmente lorsque les deux variétés sont placées dans un environnement stressant, en effet les feuilles des plantes stressées perdent autant d'électrolytes que celles des témoins, cette augmentation varie selon le type de stress et selon la variété testée.

La figure 14 montre que dans des conditions optimales les deux variétés (Waha et Bousselem) présentent le pourcentage le plus bas appartenant à un intervalle avoisinant, qui va dans les alentours de 16 à 18 %.

En revanche dans des conditions stressantes au terme de 4h et face à leur témoins, le taux des électrolytes a remarquablement augmenté et cela chez les deux variétés (Waha et Bousselem), en même temps, on note que la variété Waha montre la plus forte augmentation de la conductivité électrolytique pour le traitement hydrique avec un taux de 32%, par contre la variété Bousselem marque cette augmentation dans le traitement salin avec 26% ,

On remarque également selon cette figure que pour la variété Bousselem le taux de fuites d'électrolytique s'accroît légèrement dans les deux traitements suivants : thermique et l'hydrique présentant un pourcentage de 19% et 20% respectivement, en contrepartie la fuite des électrolytes chez la variété Waha soumise aux traitements thermique et salin, marque une augmentation assez élevée par rapport au témoin avec une valeur de 21% et 25% respectivement.

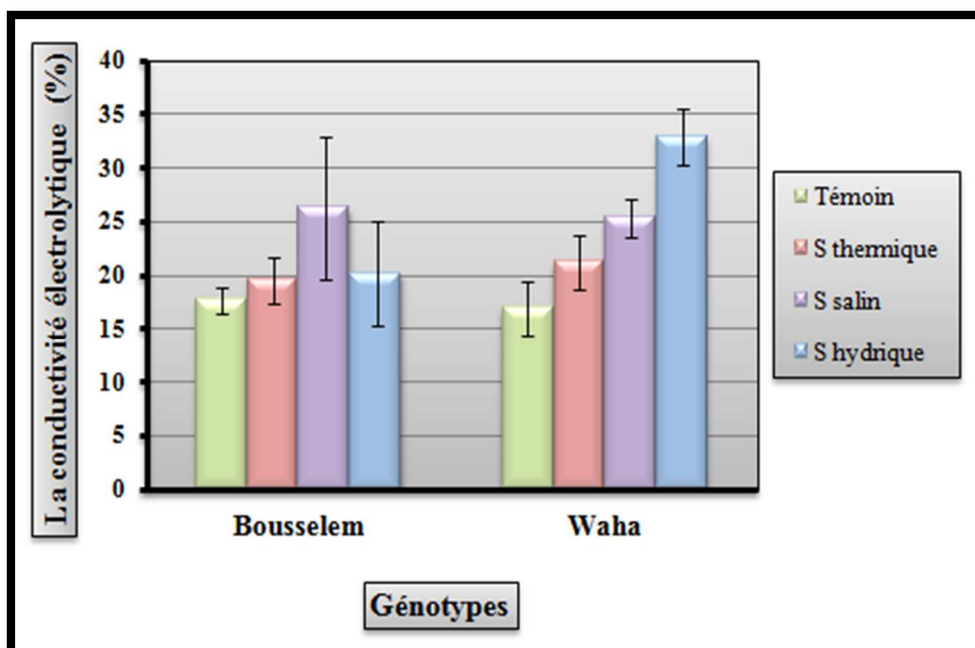


Figure 13: Variation de la CE(%) des deux variétés de blé dur étudiées soumises aux trois traitements de stress abiotique (stress Th, stress S et stress H) pendant 4h.

Ces données trouvent leur confirmation dans les tests statistiques à l'aide de l'analyse de la variance et la comparaison des moyennes de la Conductivité électrolytique, en effet ils révèlent des différences très hautement significatives pour l'effet traitement ($p < 0.001$), et des différences hautement significatives pour l'effet génotypes ainsi que l'interaction entre traitement et génotypes ($p < 0.01$).

Tableau.10 : Comparaison des moyennes de l'intégrité membranaire obtenues à partir des trois stress abiotiques appliqués aux deux variétés de blé dur.

Source	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
traitement	3	350,156	116,719	9,553	0,001***
génotypes	1	60,748	60,748	4,972	0,040**
traitement*génotypes	3	190,365	63,455	5,193	0,011**

*) Effet significatif $p < 0.05$ **) effet hautement significatif $p < 0.01$ ***) effet très hautement significatif $p < 0.001$

Le test TUKEY avec un intervalle de confiance de 95%, à analyser et comparer entre les différents traitements, et il a fait ressortir une différence significative envers toutes les interactions sauf pour les trois interactions suivantes : stress hydrique*stress salin, stress salin*stress thermique, stress thermique*témoin dont la différence n'était pas significative, la différence significative désigne que les deux variétés ont répondu d'une façon différente envers les traitements étudiés, par contre l'effet non significatif révèle que les deux variétés testées ont répondu de la même manière sous les traitements cités au paravent.

Tableau.11 : Comparaison des différents traitements de l'intégrité membranaire.

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Pr. > Diff	Significatif
S hydrique ~ Témoin	9,203	4,560	2,861	0,002	Oui
S hydrique ~ S thermique	6,131	3,038	2,861	0,035	Oui
S hydrique ~ S salin	0,722	0,358	2,861	0,984	Non
S salin ~ Témoin	8,481	4,203	2,861	0,003	Oui
S salin ~ S thermique	5,409	2,680	2,861	0,070	Non
S thermique ~ Témoin	3,073	1,523	2,861	0,448	Non

Valeur critique du *d* de Tukey : 4,046

Ce même test classe les différents traitements en 4 groupes, dont la moyenne la plus élevée (26.54%) pour le groupe (A) est enregistré pour le stress hydrique, suivie du second groupe (AB) avec une moyenne de 25.82% représentant le stress salin, en troisième position en note une moyenne de 20.41% chez le stress thermique classé dans le groupe (BC), alors que la moyenne la plus faible est marquée au témoin avec 17.34% et classé dans le quatrième et dernier groupe (C).

Tableau.12 : Classement des traitements sous trois groupes non significativement différents pour l'intégrité membranaire

Modalités	Moyenne	Regroupements		
S hydrique	26,541	A		
S salin	25,819	A	B	
S thermique	20,410		B	C
Témoin	17,337			C

Le test DUNETT à réaliser la comparaison des traitements avec le groupe de contrôle témoin au seuil de 95,00 %, ce test confirme l'existence d'une différence non significative entre les stress thermique et le témoin, et une différence significative entre les deux autres traitements et le témoin, ce même test pour le facteur variété a trouvé une différence significative entre les deux variétés testés (Waha et Bousselem), et il nous a permis d'isoler deux groupes homogènes, la variété qui affiche la moyenne la plus élevée avec une valeur de 24,12% est Waha affectée au groupe A, le second groupe B renferme la variété Bousselem avec la moyenne la plus faible ayant une valeur de 20,94%, cependant nos deux variétés testés n'ont pas la même attitudes face aux traitements effectués.

Tableau.13: Comparaison des trois traitements appliqués avec le témoin pour l'intégrité membranaire.

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique d	Différence critique	Significatif
S hydrique ~ Témoin	9,203	4,560	2,592	5,232	Oui
S salin ~ Témoin	8,481	4,203	2,592	5,232	Oui
S thermique ~ Témoin	3,073	1,523	2,592	5,232	Non

Tableau.14 : Comparaison des deux variétés étudiées pour l'intégrité membranaire.

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Pr. > Diff	Significatif
Waha ~ Bousselem	3,182	2,230	2,120	0,040	Oui

Valeur critique du d de Tukey : 2,998

Tableau.15: Classement des variétés sous deux groupes non significativement différents pour l'intégrité membranaire.

Modalités	Moyenne	Regroupements	
Waha	24,118	A	
Bousselem	20,936		B

La perte de stabilité des membranes cellulaires induite par les changements de températures, se traduit par une diminution de sa capacité à maintenir le contenu intracellulaire à l'intérieur de la cellule. On observe donc une fuite du contenu intracellulaire vers le milieu extracellulaire (Abdi et Zitouni 2014), Une autre possibilité de fuite d'ions à partir de la cellule peut être due à une inhibition induite par la chaleur des enzymes liées à la membrane responsables du maintien des gradients chimiques dans la.

Les parois et les membranes des organelles cellulaires jouent un rôle vital dans le fonctionnement des cellules. Tout effet néfaste d'un stress thermique sur les membranes conduit à la rupture de l'activité cellulaire ou à la mort. Une lésion aux parois, due à la chaleur, peut être mesurée par une fuite ionique. Une lésion aux membranes due à un stress soudain de chaleur peut provenir soit de la dénaturation des protéines membranaires soit de la fonte des lipides membranaires qui conduit à la rupture des membranes et à la perte du contenu cellulaire.

Sous stress salin les feuilles des plantes accumulent une concentration élevée de Na⁺, l'installation de cette forte dose de sel chez les végétaux est l'une des causes de l'endommagement des surfaces membranaires et de la déshydratation cellulaire, (Ouhaddach et al, 2015). Celle-ci est la conséquence d'une augmentation de la diffusion passive à travers

la couche phospholipidique membranaire lésée par le stress et/ou d'une inactivation des protéines participant au transport actifs des ions.

Sous stress hydrique les membranes cellulaires ont tendance à perdre leur stabilité membranaire plasmiques, ce qui a pour conséquent une perte d'électrolytes et la fuite d'ions dont les ions Ca^{+2} contribuant ainsi à la perte de turgescence, (Bousba et *al*, 2013), ces même observation ont été rapportées par (Bentahar ,2017).

Ainsi nos résultats confirment les observations de (Hamla,2015 ;Bentahar, 2017) qui suggèrent que sous un stress hydrique les membranes cellulaires sont soumises à des changements tels que l'augmentation de la perméabilité cellulaires qui peut être vue à travers l'augmentation de la fuite d'électrolytes , il ont notés aussi que les valeurs d'électrolytes les plus basses sont relevées chez les témoins (aux alentours de 20%), en conditions stressantes le taux d'électrolytes monte et atteint les 50%.

Les effets significatifs du stress hydrique sur l'augmentation du taux d'électrolytes cellulaire ont été rapporté par plusieurs auteurs et chez plusieurs espèces : l'orge par (Kocheva et *al*, 2012), le blé et l'aegilops par (Benghersallah, 2015)...etc

Cette aptitude de la variété de blé Bousselem à maintenir la stabilité de ses membranes dans la contrainte hydrique et thermique observé par un taux de fuite d'électrolyte faible par rapport au témoin, semble être associée à des mécanismes d'évitement de la contrainte. (Bouakez et Hamadouche, 2015), Ont représenté une composante majeure de la tolérance à la sécheresse chez les plantes, La stabilité de la membrane cellulaire, réciproque à la lésion de la membrane cellulaire, est un indice physiologique largement utilisé pour l'évaluation de la tolérance à la sécheresse.

(Bajji et *al*, 2002) ont révélé que la conductivité électrolytes est bien corrélé avec le niveau de résistance aux stress chez le blé dur et que les cultivars sensibles sont caractérisés par le taux d'électrolytes élevés ; cela est observé clairement chez la variété Waha dans le stress hydrique et la variété Bousselem dans le stress salin, où le taux d'électrolytes est remarquablement élevé selon (la figure14).

Le taux élève de la conductivité électrolytique observé en conditions de stress sont principalement dû à des dommages affectant les membranes cellulaires qui deviennent plus perméables, ces dommage peuvent profondément altérer la structure ainsi que la fonction des membranes (Bentahar, 2017) , Des résultats similaires chez différents types de plantes, affirmant que plus la conductivité électrique augmente plus l'intégrité membranaire diminue (Bousba, 2009).

En effet sous contraintes abiotique à savoir thermique salin et hydrique, la déstabilisation membranaire est due à une désorganisation de l'ultra structure des parois provoquée par le

stress .Ces altérations peuvent résulter de destructions mécaniques par plasmolyse (Kara et Zerguine, 2016) donc une différence significative dans la variation des taux d'électrolytes cellulaires affecte de manière significative la stabilité des membranes cellulaires des plantes.

A cette fin nous avons conclu que les stress abiotiques provoquent une hausse de la viscosité des composants cytoplasmiques, Ainsi, la chance des interactions moléculaires qui peuvent provoquer la dénaturation des protéines et la fusion membranaire pourra augmenter (Farooq et al, 2009), une large gamme de composés a été identifiée pour prévenir de telles interactions moléculaires défavorables. Certains d'entre eux sont la proline, le glutamate, la glycine betaine, le mannitol, le sorbitol, les fructanes, les polyols, le tréhalose, le saccharose et les oligosaccharides.

3. Analyse de la température foliaire (TF°C) :

La température est un facteur clé de la croissance et du développement des plantes conjuguée avec la luminosité, le dioxyde de carbone, l'humidité dans l'air, l'eau et les nutriments (Tanja, 2017).

Les fluctuations de l'échelle des valeurs de la température foliaire en fonction des trois traitements (hydrique, salin et thermique) appliqués sont indiqués dans la figure 15, ces résultats montrent que la température foliaire a été positivement influencée par les trois stress imposés, ainsi on note une augmentation des valeurs de la température foliaire chez les deux variétés (Bousselem et Waha) stressées.

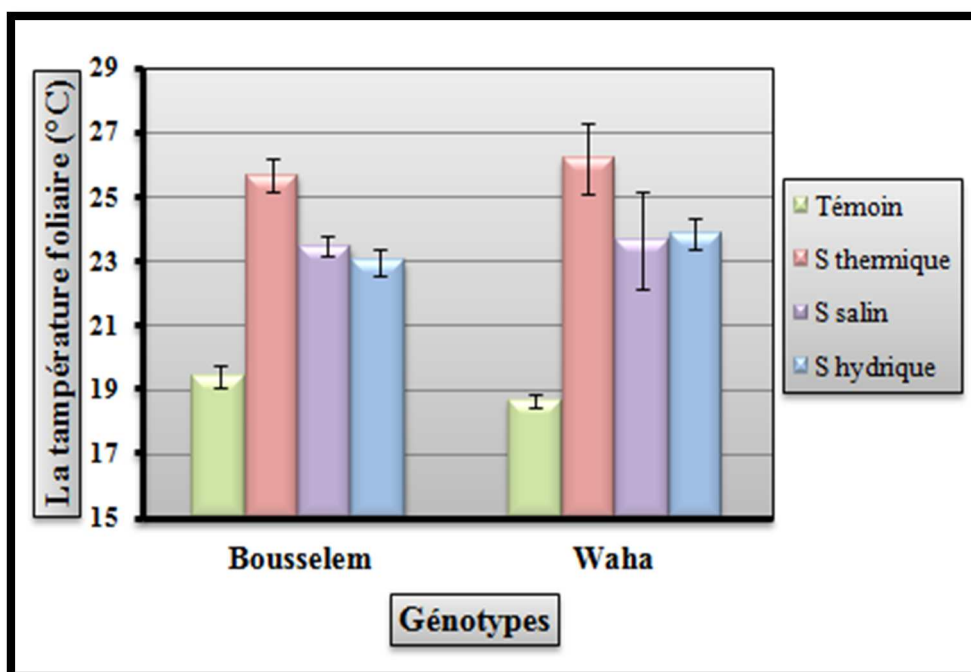


Figure 14: Variation de la Tf (°C) des deux génotypes de blés durs étudiés soumis aux trois traitements de stress abiotique (stress H, stress S et stress Th) Pendant 4h.

D'après (la Figure.14), sous conditions optimales des deux variétés étudiées marquent des valeurs approximatives entre 19.4°C et 18.6°C chez Bousselem et Waha respectivement

Au traitement du stress thermique la TF fluctue entre 25.66°C et 26.2°C chez les deux variétés Bousselem et Waha, concernant les deux stress salin et hydrique, ceux-ci marquent des valeurs proches entre eux et qui varient de 23°C à 24°C.

D'après l'analyse de la variance effectuée sur les deux facteurs (traitement, génotype) et d'après l'analyse de la variance de leur interaction on constate l'existence d'une différence très hautement significative entre génotype et traitement (Tableau 16).

Tableau.16 : Comparaison des moyennes de la température foliaire obtenues à partir des trois stress abiotiques appliqués aux deux variétés de blé dur.

Source	ddl	SC	CM	F de Fisher	Pr > F
traitement	3	105,898	35,299	63,650	< 0,0001***
génotypes	1	5,704	5,704	10,285	0,005**
traitement*génotypes	3	15,371	5,124	9,239	0,001**

***) Effet très hautement significatif $p < 0.0001$) effet hautement significatif $p < 0.005$ **) effet hautement significatif $p < 0.001$ **

Le test TUKEY au seuil 95% comparé entre traitement(Tab.17) celui-ci nous a confirmé qu'il y'a des différences significatives qui apparaissent entre la pluparts des traitements sauf pour les interactions entre S.thermique*S.hydrique,S.thermique*S.salin et S.salin *S.hydrique qui démontrent des résultats non significatifs.

Tableau .17 : Comparaison des différents traitements de la température foliaire.

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Pr. > Diff	Significatif
S thermique ~ Témoin	5,383	12,521	2,861	< 0,0001	Oui
S thermique ~ S hydrique	0,983	2,287	2,580	0,087	Non
S thermique ~ S salin	0,850	1,977			Non
S salin ~ Témoin	4,533	10,544	2,580	< 0,0001	Oui
S salin ~ S hydrique	0,133	0,310			Non
S hydrique ~ Témoin	4,400	10,234	2,120	< 0,0001	Oui

Le regroupement des traitements à décelé la présence de deux groupes A et B (tableau .18).le premier groupe A représentent les traitements stress thermique, salin et hydrique avec des moyennes de 24,47°C, 23,57°C et 23.43°C respectivement. Le deuxième groupe B signale le témoin avec une moyenne générale de 19.03°C.

Tableau.18 : Classement des traitements chez les deux variétés pour la température foliaire.

Modalités	Moyenne	Regroupements	
S thermique	24,417	A	
S salin	23,567	A	
S hydrique	23,433	A	
Témoin	19,033		B

Le test TUKEY au seuil 95% classe le facteur variété en deux groupes A et B (Tab.19). Le premier groupe A représenté la variété Waha avec une moyenne de 23,10°C et le deuxième groupe B signale la variété Bousselem avec une moyenne générale de 22,12°C.

Tableau.19: Classement des variétés sous deux groupes non significativement différents pour la température foliaire.

Modalités	Moyenne	Regroupements	
Waha	23,100	A	
Bousselem	22,125		B

Sous les conditions d'un stress thermique, l'augmentation de la température foliaire chez les deux variétés Bousselem et Waha est due à une forte transpiration et aussi à un effet mécanique qui consiste à l'ouverture et la fermeture des stomates.

Selon, (Leinonen et Jones, 2004), le stress thermique des hautes températures de l'environnement se trouve fréquemment associé au déficit hydrique, non seulement parce que les périodes chaudes sont souvent sèches, mais aussi à cause de l'augmentation de la transpiration qui dépend des conditions environnementales comme la lumière, le niveau de CO₂ atmosphérique et l'humidité relative, mais aussi des espèces végétales, ceci est conforme à nos résultats trouvés.

L'augmentation de la température foliaire sous un stress salin des deux variétés étudiés signifie qu'il y'a une faible transpiration, donc une fermeture stomatique, celui-ci réduit l'assimilation du CO₂ et conduit inévitablement à une réduction de l'activité photosynthétique et augmentation de la température foliaires des variétés.

L'excès de Na⁺ provoque également un déséquilibre dans les proportions de concentrations des éléments minéraux indispensable au bon fonctionnement des plantes (Orcutt et Nilsen, 2000) et réduit la disponibilité du K⁺ et du H₂O cela implique qu'il y'a une forte diminution de la transpiration qui va à la suite induire une fermeture stomatique.

Tout comme pour le Na⁺, une concentration élevée de Cl⁻ n'est pas compatible avec le processus métabolique (forte dépolarisation des structures cellulaires) (Mansour et Salama,

2004). L'effet spécifique de ces ions affecte l'intégrité membranaire, l'activité enzymatique, l'absorption de nutriments ainsi que le fonctionnement de l'appareil photosynthétique.

(Farineau et Morot-Gaudry, 2006). Ont montré, qu'à la présence d'un stress hydrique une partie importante de l'énergie radiative incidente est dispersé sous forme de transpiration.

D'après, (Hayoun ,2013).Une réduction de la transpiration par fermeture stomatique se traduit donc par un réchauffement de la feuille, ce qu'il fait une augmentation de la température foliaire de la plante. Ces résultats sont en accord avec nos résultats.

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 géotypes 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.

L'adaptation à des milieux aux régimes hydriques variables est en partie associée à l'ajustement osmotique (Richards *et al*, 1997). Ceci 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), et des sucres solubles.

Les deux variétés Bousselem et Waha ont réagi au stress en mettent en œuvre diverses stratégies de défense, elles perçoivent 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.

D'après nos résultats, nous avons pu conclure, que la température foliaire des deux variétés étudiés est influencée par les trois stress quelles ont subi.

4. Analyse de la résistance stomatique (RS .s/cm)

D'après les résultats consignés dans (la figure.16), la Résistance stomatique du témoin des deux variétés étudiées (Bousselem et Waha) montre une variation entre (18,33s/cm et 3,2s/cm) dont la valeur importante est présentée par la variété Bousselem (18,33S/cm) et la faible valeur est présentée par la variété Waha (3,22s/cm) comparant au témoin.

Sous le traitement thermique, le comportement des deux variétés change totalement comparativement à celui du témoin. Les valeurs présentent une RS faible qui va de 0,89s/cm chez Bousselem à 0,69s/cm chez Waha. (Figure 15).

Nous observons une augmentation de la RS chez Bous et W au niveau des deux traitements Salin et Hydrique, ainsi les valeurs enregistrées sont presque identique pour les deux traitements, les valeurs observés du stress salin des deux variétés sont respectivement 28,46s/cm, 29,26s/cm et les valeurs observés du stress hydrique sont 27,40s/cm, 29,73s/cm successivement.

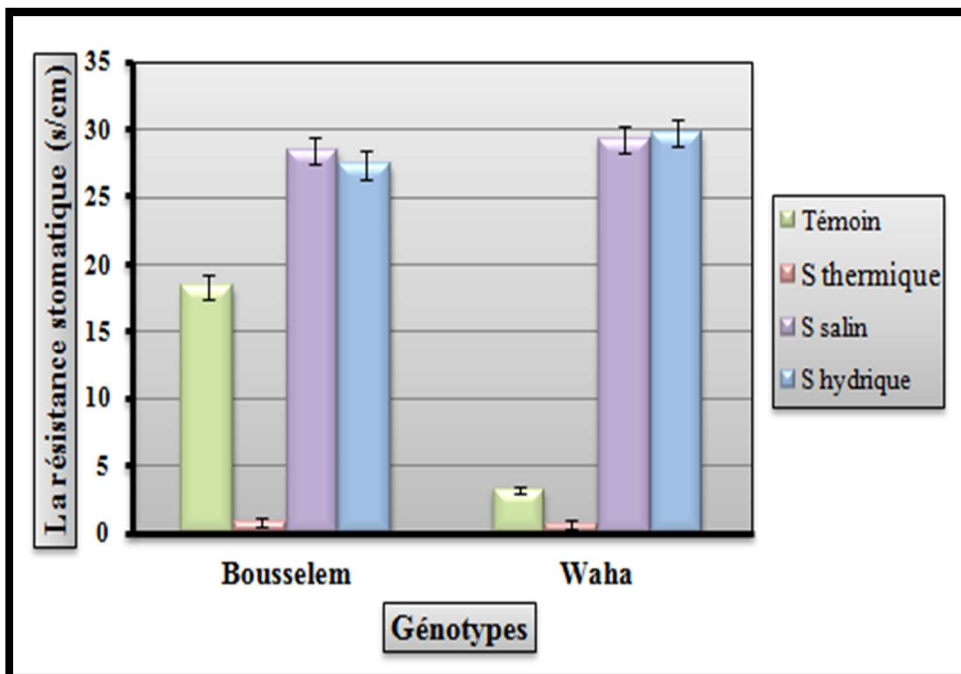


Figure15: Variation de la Rs (s/cm) des deux variétés de blé dur étudiées soumises aux trois traitements de stress abiotique (stress H, stress S et stress Th) pendant 4h.

Les comparaisons des moyennes de la résistance stomatique et l'analyse de variance, montrent qu'il existe une différence très hautement significative entre les traitements et les variétés et entre l'interaction (traitement X variétés).

Tableau.20 : Comparaison des moyennes de résistance stomatique obtenues à partir des trois traitements de stressa biotique appliqués aux deux variétés de blé dur.

Source	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
traitement	3	3453,781	1151,260	508,628	< 0,0001***
génotypes	1	55,632	55,632	24,578	0,000***
traitement*génotypes	3	296,174	98,725	43,617	< 0,0001***

***) Effet très hautement significatif $p < 0.0001$) effet hautement significatif $p < 0.005$ **) effet hautement significatif $p < 0.001$ **

Le test TUKEY au seuil 95% comparé entre traitements (Tableau.21) celui-ci nous a démontré qu'il y'a des différences significatives qui apparaissent entre la pluparts des traitements sauf pour l'interaction entre S.saline*S.hydrique qui démontrent des résultats non significatives.

Tableau.21: Comparaison des différents traitements de la résistance stomatique.

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Pr. > Diff	Significatif
S salin ~ S thermique	28,070	32,316	2,861	< 0,0001	Oui
S salin ~ Témoin	18,090	20,826	2,861	< 0,0001	Oui
S salin ~ S hydrique	0,300	0,345	2,861	0,985	Non
S hydrique ~ S thermique	27,770	31,971	2,861	< 0,0001	Oui
S hydrique ~ Témoin	17,790	20,481	2,861	< 0,0001	Oui
Témoin ~ S thermique	9,980	11,490	2,861	< 0,0001	Oui

Le test TUKEY au seuil 95% désigne l'existence de trois groupes de traitements. Le premier groupe (A) représente le stress salin et stress hydrique avec des moyennes 28,87s/cm, 28,57s/cm successivement, alors que le deuxième groupe(B) renferme le témoin avec une moyenne 10,78s/cm et le dernier groupe(C) porte le stress thermique avec moyenne 0,80s/cm. (Tableau 22)

Tableau.22: Classement des traitements chez les deux variétés pour la résistance stomatique.

Modalités	Moyenne	Regroupements		
S salin	28,867	A		
S hydrique	28,567	A		
Témoin	10,777		B	
S thermique	0,797			C

Le test Dunnett au seuil 95% comparé les trois traitements avec le témoin, celui-ci nous a démontré qu'il y'a des différences significatifs entre chaque stress avec son témoin.

Tableau.23: Comparaison des trois traitements appliqués avec le témoin.

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Différence critique	Significatif
S salin ~ Témoin	18,090	20,826	2,592	2,252	Oui
S hydrique ~ Témoin	17,790	20,481	2,592	2,252	Oui
S thermique ~ Témoin	-9,980	-11,490	2,592	2,252	Oui

Le test TUKEY au seuil 95% classe le facteur variété en deux groupes A et B (Tableau 24).le premier groupe A représenté la variété Bousselem avec une moyenne de 18,77s/cm et le deuxième groupe B signale la variété Waha avec une moyenne générale de 15,73s/cm.

Tableau.24: Classement des variétés sous deux groupes non significativement différents pour la résistance stomatique.

Modalités	Moyenne	Regroupements	
Bousselem	18,774	A	
Waha	15,729		B

Sous les conditions de stress thermique, les deux variétés ont connus une diminution de la résistance stomatique. Ce qui signifie qu'il y'a une forte transpiration donc les stomates sont ouverts. Nos résultats, sont en accord avec ceux de (Abdi et Zitouni, 2014).

Selon, (Ykhlef, 2001) le maintien de la turgescence des tissus foliaires entraîne une ouverture des stomates et contribue au maintien d'une activité photosynthétique importante.

Plusieurs études ont montré que, lors d'une contrainte thermique, les plantes adoptent des stratégies d'adaptation qui diffèrent d'une espèce à une autre et qui font intervenir une large combinaison de facteurs morphologiques, physiologiques et biochimiques (Monneveux et Belhassen, 1997). De ce fait, ces changements imposent la réflexion sur les stratégies à entreprendre pour comprendre les mécanismes mis en jeu par les plantes afin de s'adapter aux nouvelles conditions de l'environnement et de maintenir leur croissance et leur productivité (Trinchant et al, 2004). Pour se conformer aux conditions de stress thermique, les plantes ont créés de nouveaux mécanismes d'adaptation et de nouvelles compositions cellulaires afin de garder le potentiel de turgescence aussi élevé que possible.

En appliquant un stress salin, nous avons enregistré une augmentation de la résistance stomatique chez les deux variétés étudiés, ceci implique qu'il y'a une réduction de potentiel hydrique donc une fermeture des stomates.

Durant le début et le développement du stress salin à l'intérieur des plantes, tous les processus majeurs tels que : la photosynthèse, la synthèse des protéines, le métabolisme énergétiques...etc, sont affectés. La première réponse est la réduction de la vitesse d'extension de la surface foliaire, suivi par une fermeture stomatique (Parida et Das, 2005).

L'effet de salinité sur la photosynthèse se manifeste essentiellement par la réduction de l'assimilation du CO₂ et le ralentissement de l'activité du transport des électrons du photosystème. La réduction de la photosynthèse par la salinité est l'une des causes majeures de la réduction de la croissance et de la productivité végétale. Dans ce sens, les mesures de la photosynthèse sont souvent utilisées dans les études d'adaptations des plantes à différentes contraintes du milieu, telle que la salinité (Farissi et al, 2014).

D'après (Haouala et al, 2007).chez les céréales, les effets nutritionnels de la salinité incluent deux actions primaires du sel sur les plantes: la toxicité directe due à l'accumulation excessive des ions dans les tissus et un déséquilibre nutritionnel provoqué par l'excès de certains ions. L'accumulation des ions Na⁺ dans la plante limite l'absorption des cations indispensables tels que K⁺ et Ca²⁺. Il y aurait une compétition entre Na⁺ et Ca²⁺ pour les mêmes sites de fixation apoplasmique. L'accumulation des ions Na⁺ affecte l'absorption de K⁺ et ceci en fonction de la concentration du premier élément, ce qu'il fait elle empêche l'ouverture des stomates.

La concentration élevée du sel déclenche une augmentation dans les taux des hormones végétales, comme l'ABA et les cytokinines (Parida et Das, 2005).

L'acide abscissique est responsable de l'altération des gènes induits par le stress salin. Les gènes inductibles de l'ABA sont prévus de jouer un rôle important dans le mécanisme de la tolérance au sel chez le riz.

(Bousba et al, 2009) ont montré que le blé répond au stress hydrique par une augmentation dans la résistance stomatique. Ce qui reste conforme aux résultats trouvés dans notre étude, nous avons relevé la fermeture des stomates dans les deux variétés étudiées, cette dernière est due à la diminution du potentiel hydrique de la plante, cela conduit à une réduction du CO_2 échangé et par conséquent à une diminution du taux photosynthétique.

D'autre part, divers auteurs attribuent le mécanisme de fermeture des stomates à un contrôle hormonal (ABA et cytokinine). En effet, la fermeture des stomates chez les céréales est contrôlée par un signal hormonal, l'acide abscissique en réponse à l'assèchement du sol.

Plusieurs travaux montrent que le déficit hydrique chez les céréales, en particulier le blé dur, affecte à la fois les phénomènes stomatique et non stomatique de la photosynthèse.

D'après nos résultats, nous avons constaté que la résistance stomatique des deux variétés étudiées est influencée par les trois stress auxquelles ont subi.

5. Analyse des protéines totales :

Dans l'optique de mieux comprendre les bases moléculaires de la protéomique de la tolérance au stress abiotique, des analyses en SDS-PAGE ont été réalisées ; en ayant pour but l'identification des profils d'expression des protéines totales impliquées dans la réponse aux trois traitements appliqués.

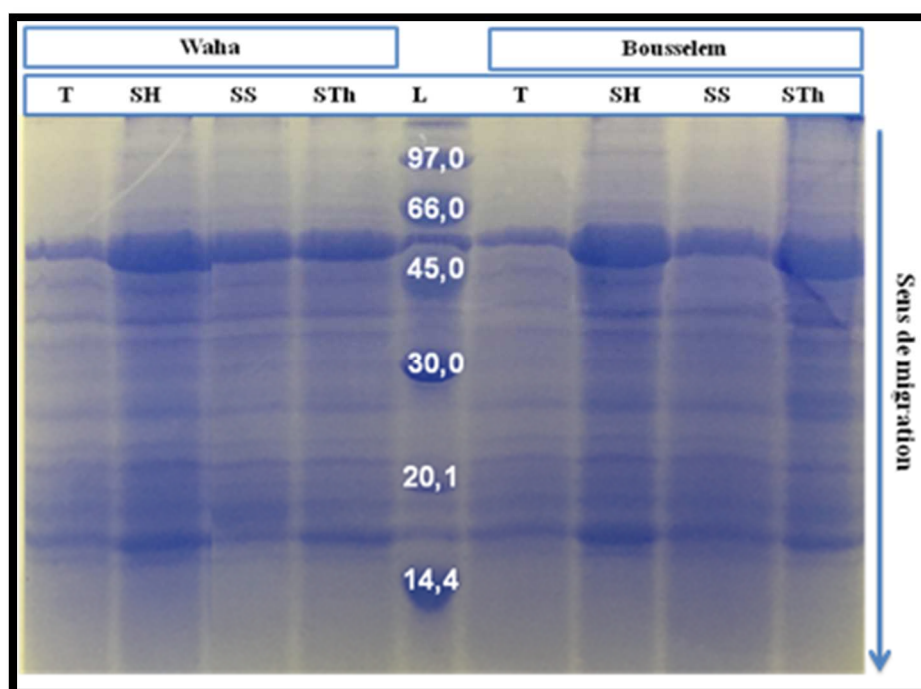


Figure 16 : Etude du Profil électrophorétique SDS-PAGE des protéines totales des feuilles de deux variétés de blé dur (waha et bousselem) soumise au trois stress abiotique (stress Th, stress S, stress H) pendant 4h.

La différence entre profils réside dans l'intensité relative des bandes, dans le nombre de bande obtenues ainsi que dans le poids moléculaire des bandes, en effet, chaque bande d'un profil électrophorétique est composée de plusieurs protéines de structure et de mobilité différente.

Ce profil électrophorétique (figure 17) montre que les bandes obtenu chez les deux variétés Waha et Bousselem en condition de stress sont fortement marquées (plus intense) et plus nombreuse que ceux de leurs témoins.

L'intensité de la bande est liée directement à la concentration de la protéine (Arumingtyas et al, 2013). D'autre part, un minimum de 50 µg de protéines est requis pour qu'une bande soit visiblement colorée par le bleu de coomassie R-250.

Par ailleurs, la présence de bandes communes entre génotypes, indique que les protéines contenues dans les feuilles de blé sont présentent à des concentrations variées dépendant du génotype (Jasso et al, 2002). Cette différence d'accumulation peut résulter d'une différence dans la régulation du gène ou dans l'organisation du génome par la présence d'un nombre élevé de copie de ce gène (Temagoult, 2009).

Le traitement des gels obtenus par le logiciel Soft Photocapt 8 permet une bonne visualisation des bandes ainsi que le calcule de leur poids moléculaires. Des différences significatives ont été notées entre génotypes et entre traitements pour ce paramètre, Les deux tableaux ci-dessous résumant les résultats obtenus :

Tableau.25 : récapitulatif du nombre de bandes révélés par electrophorese SDS-PAGE des deux variétés de blé dur (waha et bousselem) sous trois stress appliqués (stress Th, stress S, stress H) pendant 4h.

variétés	traitements	Nombre de bandes	Nombre totale de bande
waha	témoin	17	66
	s,thermique	13	
	s,salin	20	
	s,hydrique	16	
bousselem	témoin	21	71
	s,thermique	14	
	s,salin	19	
	s,hydrique	17	

Tableau.26: Diagramme présence/absence des bandes dans les feuilles des deux géotypes de blé dur étudiés soumis au différents stress abiotique (stress Th, stress S, stress H) pendant 4h. (+ pour présence, - pour absence).

	PM (Kda)	WTh	WSS	WSH	W T	BTh	BSS	BSH	BT
1	9.120	0	1	0	0	0	0	0	0
2	12.360	1	0	0	0	0	0	0	0
3	15.672	1	0	1	1	0	0	0	0
4	16.065	0	0	0	0	1	0	1	1
5	16.578	1	1	0	1	0	1	0	0
6	16.810	0	0	0	0	0	1	1	1
7	17.398	0	0	0	0	1	0	0	0
8	18.066	0	0	0	0	0	0	0	1
9	18.128	1	0	0	0	0	0	1	0
10	18.888	1	1	1	1	1	1	1	1
11	20.170	0	1	0	0	0	0	0	1
12	20.526	0	0	1	1	1	1	1	0
13	21.338	1	1	0	0	0	0	0	0
14	21.958	0	1	1	1	0	0	1	1
15	22.118	0	0	0	0	1	1	1	0
16	23.025	1	1	0	0	0	0	0	0
17	23.809	0	0	1	1	0	1	1	1
18	24.263	0	0	0	0	1	0	0	1
19	25.309	0	0	0	0	0	1	0	0
20	26.114	1	1	1	1	0	0	0	0
21	26.850	0	0	0	0	1	1	1	1
22	28.072	0	0	0	0	0	0	0	1
23	31.035	1	1	0	0	0	0	0	0
24	31.435	0	0	1	1	0	1	1	1
25	32.391	0	0	0	0	1	0	0	0
26	34.540	1	0	0	0	0	0	0	0
27	35.133	0	1	0	0	0	0	0	0
28	35.734	0	0	1	0	0	0	1	1
29	36.189	0	0	0	1	0	0	0	0
30	36.803	0	0	0	0	1	1	0	0
31	37.890	0	0	0	0	0	0	0	1
32	38.677	1	1	1	1	0	0	0	0
33	39.472	0	0	0	0	0	1	1	0
34	40.595	0	0	0	0	1	0	0	0
35	42.217	0	1	0	0	0	0	0	1

36	44.016	1	0	1	0	0	0	0	0
37	44.672	0	0	0	1	0	1	1	0
38	46.280	0	0	0	0	1	0	0	0
39	56.152	0	0	1	1	1	1	1	0
40	56.480	1	1	0	0	0	0	0	1
41	60.159	0	1	0	0	0	0	0	0
42	62.208	0	0	1	1	0	0	0	0
43	63.928	0	1	0	0	0	0	0	0
44	66.000	0	0	1	1	1	1	0	0
45	66.508	0	0	0	0	0	0	1	1
46	70.836	0	0	0	0	0	0	0	1
47	73.160	0	0	0	0	0	1	0	0
48	81.953	0	0	0	0	0	1	0	1
49	83.942	0	1	1	0	0	0	0	0
50	84.612	0	0	0	1	0	0	0	0
51	88.683	0	0	0	0	0	1	0	0
52	95.606	0	0	0	0	0	0	0	1
53	97.000	0	1	0	0	0	0	0	0
54	98.265	0	0	0	1	0	0	0	0
55	98.898	1	0	0	0	1	1	1	0
56	101.429	0	1	1	0	0	0	0	0
57	105.224	0	1	0	0	0	0	0	0
58	107.755	0	0	0	0	0	0	0	1
59	111.551	0	0	1	0	0	1	0	0
60	112.184	0	0	0	1	0	0	1	0
61	112.816	0	0	0	0	0	0	0	1
62	116.612	0	1	0	0	0	0	0	0

tout V1 V2	TOUT V1	TOUT V2	STH V1 V2	SS V1 V2	SH V1 V2	T V1 V2	bande unique
------------	---------	---------	-----------	----------	----------	---------	--------------

Ainsi, le tableau obtenu révèle la présence de 62 bandes différentes aux poids moléculaires allant de 116.61 KDa à 9.12 KDa.

12 d'entre elles ont été observées aussi bien chez les témoins que chez les stressés pour la variété Waha, C'est le cas des bandes 4, 6, 11, 13, 15, 18, 21, 25, 33, 40, 43 et 45, pour la variété Bousselem on observe 10 d'entre elles, C'est le cas des bandes : 5, 7, 11, 15, 18, 19, 22, 25, 29 et 49.

D'autre part, 5 bandes n'ont été observées que chez les témoins : 30, 38, 51, 55, 61 pour la variété Waha, ayant un poids moléculaire qui varie de 36.189 Kda à 112.184 Kda, et 10 bandes observées chez les témoins de la variété Bousselem : 9, 12, 23, 33, 36, 41, 47, 53, 59 et 62 d'un poids moléculaire allant de 18.066 Kda à 112.861 Kda.

Par contre, 4 bandes sont apparues chez la variété Waha soumise au stress thermique. Cas des bandes : 3, 10, 27 et 56. Ayant un poids moléculaire 13.360 Kda, 18.128 Kda, 34.540 Kda et 98.898 Kda respectivement, on retrouve le même nombre de bande chez la variété Bousselem soumise au même traitement, cas des bandes : 8, 26, 35 et 39, de poids moléculaire : 17.398 Kda, 32.39 Kda, 40.595 Kda et 46.280 Kda respectivement.

On ajoutant 200 mM de NaCl, on note la présence de 8 bandes chez la variété Waha, cas des bandes : 12, 28, 36, 42, 44, 54, 58 et 63 dont le poids moléculaire varie de 20.170 Kda à 116.612 Kda. Et 5 bandes sont apparues chez la variété Bousselem soumise au même traitement, cas des bandes : 6, 20, 48, 52 et 60 appartenant à l'intervalle du poids moléculaire 16.578 - 111.551 Kda.

Après 4h d'un manque d'eau, 2 bandes sont apparues chez la variété Waha et Bousselem, c'est le cas des bandes : 29 et 60 de poids moléculaire 35.734 Kda et 111.551 Kda respectivement pour la variété Waha, et cas des bandes : 10 et 61 d'un poids moléculaire 18.128 Kda et 112.184 Kda respectivement chez la variété Bousselem.

Comme on observe aussi la présence de 25 bandes uniques, entre les deux variétés testées et entre les 4 traitements effectués, on retrouve la présence de ces bandes une seule fois dans un seul traitement et dans une seule variété autrement dit se sont des bandes particulières appartenant à des protéines qui s'expriment spécifiquement.

La bande de 18.88 Kda et 26.11 Kda ainsi que celle de 38.67 Kda, représentent les trois bandes qui se trouvent dans le témoin et les trois traitements appliqués chez la variété waha, chez la variété Bousselem on note seulement deux bande (18.88 Kda et 26.85 Kda) présentes dans le témoin et les trois traitements appliqués.

Par contre on remarque que la bande de 20.52 Kda, 22.11 Kda, 56.15 Kda, et 98.89 KDa sont présentes dans les trois traitements et absentes dans le témoin seulement chez la variété Bousselem.

Selon le Tableau.24, On remarque également que la bande de 98.89 KDa est spécifique au stress thermique, autrement dit cette bande correspondant à une protéine qui s'exprime uniquement dans le stress thermique chez les deux variétés étudiées, C'est le cas également de la bande de 16.57 KDa pour le stress salin, par ailleurs, dans le traitement hydrique on note la présence de 6 bandes de poids moléculaire : 20,52 Kda, 21,95 Kda, 23,80 Kda, 31,43 Kda, 35,73 Kda et 56,15 Kda, qui s'expriment seulement en manque d'eau chez les deux

génotypes Waha et Bousselem, à côté, Dans des conditions optimales on observe la présence de 3 bandes spécifique pour les deux variétés Waha et Bousselem ayant les poids moléculaire suivant : 21.85 Kda, 23.80 Kda et 31.43 Kda.

On remarque aussi la disparition de certaine bandes présentent chez le témoin des deux variétés lorsque ces dernières sont soumise a un stress, donc certainement le stress inhibe l'expression de quelques protéines, on cite l'exemple de la bande numéro 30, 38, 51, 55 et 61 au poids moléculaire 36.189 Kda, 44.672 Kda, 84.612 Kda, 98.265 Kda et 112.184 Kda respectivement chez la variété Waha qui disparaît pendant le traitement hydrique, salin et thermique, ainsi pour la variété Bousselem on note l'absence de la bande numéro 9, 12, 23, 32, 36, 41, 47, 53, 59 et 62 au poids moléculaire 18.066 Kda, 20.170 Kda, 28.072 Kda, 37.890 Kda, 42.217 Kda, 56.480 Kda, 70.836 Kda, 95.606 Kda, 107.755 Kda et 112.816 Kda respectivement, du cout on peut signer que le métabolisme de la variété Bousselem vu son nombre élevé de protéines inhibées par le stress (10), est plus perturbé que la variété Waha (5). Ces résultats concordent avec ceux de (Ipengue, 2012) dans l'étude du stress salin.

Plusieurs auteurs ont montré que le stress entraîne une hausse des protéines totales pour le stress salin. (Bouchoukh, 2010) pour le stress thermique et (Bousbaa, 2012) pour le stress hydrique, ceci concorde exactement dans notre travail, Les deux variétés étudiées ont répondu aux conditions des trois stress appliqués par une hausse dans le niveau de protéines totales comparativement aux témoins, ce qui confirme que les contraintes abiotiques induisent des modifications quantitatives et qualitatives dans la synthèse des protéines.

Ce résultat peut être expliqué par le fait que la plante cherche à protéger son intégrité morphophysiological, en réponse aux dommages et aux effets défavorables du stress appliqué en élaborant des enzymes et des protéines dont le rôle est de neutraliser les molécules générées par ce stress (Gardés-Albert et al, 2003).

La stimulation des protéines est due à une activation d'un ensemble de gènes permettant la synthèse des protéines spécifiques associées aux stress qui assurent une protection de l'ensemble vital des protéines cellulaires pour maintenir les structures protéiques et membranaires de la cellule végétale.

Certains auteurs, soulignent que ces protéines induites lors d'un stress «protéines de stress» (Hamilton et Heckathorn, 2001) telles que les protéines «LEA» «AQP» et «HSP», peuvent s'associer à la protéine en cours d'élongation et stabilise les conformations intermédiaires, elles permettent la remise en forme de protéines partiellement dénaturées ou en modifiant temporairement la conformation des protéines pour faciliter leur pénétration dans les organites. Ces protéines sont en association avec la tolérance au stress dans de nombreuses

plantules, surtout pour le cas des cultures annuelles tels que les céréales (Bouakez et Hamadouche, 2015).

De se fait, on note 11 bandes chez la variété Waha soumise à un stress thermique au terme de 45°C, ces bandes appartiennent au groupe des Hsp (sHSP) à faible poids moléculaire allant de 10 à 40 Kda, par contre chez la variété Bousselem on enregistre 10 bandes appartenant à ce groupe de protéines, un autre groupe existe des sHSP (HSP27), signalé dans les deux variétés étudiées (Waha et Bousselem) avec différents poids moléculaires dont 26.11Kda et 26.84Kda respectivement. Dans le même traitement et selon la figure 24, deux bandes sont apparues chez la variété Waha et 3 bandes chez la variété Bousselem, ces bandes font partie du groupe de protéine thermostable HSP60 dont leur poids moléculaire varie entre 40 à 60 Kda, on note aussi la présence d'une seule bande au poids moléculaire 66 Kda appartenant au groupe des HSP70 chez la variété Bousselem, en revanche la variété Waha ne présente aucune bande de ce poids moléculaire, Une bande du même poids moléculaire (98.89 Kda) est notée pour les deux variétés (Waha et Bousselem) liée au groupe du haut poids moléculaire HSP100.

Certain homologues constitutifs des Hsp70 existent, cas des Hsc70, ce type de protéine ne sont pas induites par un stress elles sont exprimées chez les plantes placées dans un environnement favorable (Wirth et al 2003), ceci est absolument observé dans (le Tableau.24) où la bande numéro 47 de poids moléculaire 70.03 Kda chez le témoin de la variété Bousselem.

L'un des mécanismes cellulaires de défense contre un stress thermique c'est l'expression de protéines de choc thermique, (Hsp), Ces protéines assurent une protection lors d'un stress, on les trouve également surexprimées lors de l'exposition des plantes à la sécheresse, ou à des fortes teneurs en sel, (Wang et al, 2004).

Cependant, 3 bandes ont été enregistrées pour les deux variétés soumises aux deux traitements hydrique et salin avec un poids moléculaire allant de 25 à 33 Kda, ces bandes semblent appartenir au groupe des AQP, ce type de protéines s'exprime sous conditions stressantes savoir salin et hydrique. Ce type de protéines semble régulé l'homéostasie d'eau lorsque ce dernier est perturbé par le stress hydrique (Srivastava et al, 2016).

Comme on note aussi la présence de 16 bandes cas de bande numéro : 4, 11, 13, 15, 18, 21, 25, 29, 33, 37, 40, 43,45, 50, 57 et 60 ayant un poids moléculaire de 9 Kda jusqu'à 116.612 Kda, chez la variété Waha soumise au traitement hydrique. Dans ces mêmes conditions, on enregistre 17 bandes, cas des bandes numéro : 5, 7, 10, 11, 13, 15, 16, 18, 22, 25, 29, 34, 38, 40, 46, 56 et 61 ayant le même intervalle du poids moléculaire que la variété Waha, ces bandes obtenues en ces conditions semblent appartenir à des protéines appropriées à la famille des DHN, ces protéines induites par le stress hydrique, sont très efficaces dans la protection des membranes cellulaires (Neffar 2013).

En conditions standards, les protéines thermostables (DHN) s'accumulent à moindre mesure, comparativement aux conditions stressantes, une différence englobe également l'intensité des bandes révélées, effectivement, l'accumulation des DHN confère aux cellules une protection contre les effets de la déshydratation (Hamla2016)

On peut conclure que le stress cause de profondes altérations du métabolisme cellulaire (Iskandar et al, 2011), de ce fait, la réaction des plantes à des situations défavorables se traduit notamment par la synthèse rapide de polypeptides, les changements dans le profil protéique (l'inhibition de certaines protéines, la surexpression de certaines d'autres et l'apparition de nouvelles protéine) interviennent suite à beaucoup de stress environnementaux parmi lesquels le manque d'eau, la salinité et la haute température .

Ces protéines ainsi exprimé ont une grande importance dans l'adaptation des plantes au stress. Une partie des protéines induites ont une fonction directe dans l'augmentation de la tolérance au stress (protéines fonctionnelles), d'autres ont une fonction dans la chaîne de transduction (protéines régulatrices) qui aboutiront à la production de protéines fonctionnelles (Temagoult, 2009).

Tous d'même le rôle précis de ces protéines reste incertain, bien que leur séquençage et la comparaison avec les banques de données permettent souvent de leur supposer une fonction.

Conclusion

Certaines études ont permis de décrire les comportements variés vis-à-vis des contraintes abiotiques qui règnent dans l'environnement de la céréaliculture Algérienne et en particulier de distinguer celui des variétés améliorées.

Le stress abiotique affecte le développement et le bon fonctionnement des plantes. Par ailleurs, la plante doit disposer des mécanismes d'adaptation qui lui permettent de supporter la sécheresse, la haute température et la salinité. Les principaux mécanismes de la tolérance à ces contraintes demeurent la résultante de plusieurs actions : L'expression de différents gènes et l'accumulation de diverses osmolytes.

Dans le cadre de ce travail, on s'est intéressées à comparer les comportements des deux variétés de blé dur (Bousselemn et Waha) vis-à-vis des différents stress abiotique (thermique, hydrique et salin). Au cours de nos travaux nous nous sommes basées sur l'utilisation des paramètres physiologiques et biochimiques permettant ainsi de démontrer l'adaptation des deux variétés aux stress appliqués.

Le travail réalisé dans cette étude, nous a permis d'avoir certains renseignements sur les différents effets du stress abiotique sur les paramètres étudiées et également la condensation des protéines activés dans les deux variétés Bousselem et Waha. L'étude physiologique montre que les stress appliqués ont provoqués une réduction de la teneur relative en eau et de l'intégrité membranaire, Cependant, la résistance stomatique ainsi que la température foliaire, ont connu une augmentation chez les deux variétés. Toutefois, nous pouvons signaler que les deux variétés de blé dur utilisent les mêmes stratégies pour tolérer le stress hydrique, thermique et salin.

D'un autre côté, l'analyse des gels de protéines a révélé une différence significative dans le nombre et l'intensité des bandes mais aussi du poids moléculaire dont l'expression était modifiée par les trois stress soit hydrique, thermique ou salin. au totales de 62 bandes différentes d'un poids moléculaire allant de 9.1KDa à 116.6KDa, nous avons noté un comportement diversifié dans l'expression de ces protéines chez les deux variétés, d'où nous avons remarqué la présence ou absence de certaines bandes chez les témoins de même chez les stressés, d'autre part il existe un nombre important des bandes révélées seulement chez les variétés en condition de stress. Ces bandes représentent des protéines de stress dont les LEA, AQP et HSP. Ceci est confirmé par la plupart des recherches faites sur les plantes cultivées sous stress abiotique et qui ont signalé la présence des LEA avec un poids moléculaire allant de 9 à 200KDa, AQP de 25 à 35KDa et HSP de 9 à 100 KDa.

Ces protéines jouent un rôle primordial dans la tolérance, la protection et la stabilisation des membranes ainsi que les comportements cytoplasmiques de la plante, pour s'adapter aux

conditions de l'environnement auxquelles elle est confrontée, et par conséquent arrive à maintenir un fonctionnement satisfaisants et une stabilité du rendement.

D'après les résultats des différents paramètres étudiés pour les deux variétés nous pouvons déduire que leur réponse face aux trois contraintes abiotiques appliquées, est sous un contrôle génétique.

A travers cette étude, nous pouvons conclure d'une part que le stress abiotique provoque l'installation de nombreux mécanismes d'adaptation chez les deux variétés étudiées, la différence réside dans la variation des réponses variétales pour chaque paramètre. D'autre part, il est clair qu'à partir des résultats obtenus sur l'expression des protéines en conditions de stress abiotique, que les deux variétés cumulent un nombre important de protéines ceci suggère que ces variétés semblent être mieux résistante aux contraintes abiotiques.

Perspectives :

Les résultats obtenus laissent entrevoir de nombreuses perspectives qui nécessitent des études plus approfondies, à s'avoir :

- ✓ En s'intéressant surtout à l'aspect de la génétique moléculaire de la tolérance aux stress salin, thermique et hydrique comme étant trois facteurs limitant la production en matière céréalière en région arides et semi arides.
- ✓ Tout en continuant d'étudier les caractères morphologiques et biochimiques qui restent importants dans la caractérisation des variétés de blé. Il importe également d'utiliser l'analyse moléculaire pour une meilleure connaissance génétique des espèces afin de mieux les discriminer.
- ✓ Essayer des durées prolongées supérieures à 4heures comme temps d'acquisition d'images surtout pour les plantes stressées.
- ✓ D'étudier la résistance aux stress biotiques.
- ✓ Elargir l'étude en comparant plus de variétés de blé dur.
- ✓ Introduire les gènes impliqués dans la résistance et accélérer le processus de création variétale.

Références

bibliographique

- Abdelly C., Ozturk M., Ashraf M et Grignon C., (2008).** Biosaline Agriculture and High Salinity Tolerance. (Eds) Birkhauser Verlag/L Swizerland, 36p. 102 illus.
- Abdi S et Zitouni A., (2014).** Dosage de l'acide abscissique en conditions de stress hydrique et thermique et étude des mécanismes de tolérances chez quelques variétés du blé dur (*Triticum durum* Desf.). Mémoire. Université Mentouri, Constantine Faculté de biologie Département de Biologie Végétale et Écologie. P : 19-25-31-32 -41-44-47-53.
- Achour A., (2015).** L'impact de la salinité sur le comportement hydrique et métabolique d'une variété de Gombo. Article. Université d'Oran 1 Ahmed ben Bella. Vol. 12, No. 4. P : 14-18.
- Agastian P., Kingsley S.J., Vivekanandan M., (2000):** Effect of salinity on photosynthesis and biochemical characteristics in mulberry genotypes. *Photosynthetica*, 38: 287–290.
- Ainaoui S et Lafala Z., (2016).** Comparative de l'effet du stress hydrique sur le Comportement de quatre génotypes de blé dur (*Triticum durum* Desf.). Université des Frères Mentouri Constantine 1. Mémoire. P : 1-4-6-10-24-25.
- Alberico G et Cramar G.R., (1993).** Is the salt tolerance of maize related to sodium exclusion. Preliminary screening of seven cultivars. *Journal of Plant Nutrition*, 16, 2289-2303pp.
- Allagulova, C.R., Gimalov, F.R., Shakirova, F.M., and Vakhitov, V.A., (2003).** The plant dehydrins: Structure and putative functions. *Biochemistry (Moscow)* 68, 945-951.
- Amoumen S et Benhebreche Naima., (2013).** Contribution à l'étude de la tolérance au déficit hydrique du blé dur (*Triticum durum* Desf.). Mémoire. Master. Université KASDI MERBAH OUARGLA p : 11-12-15-17-20-24-29-33.
- Arumingtyas E. L., Savitri E. S., Purwoningrahayu R. D., (2013).** Protein Profiles and Dehydrin Accumulation in Some Soybean Varieties (*Glycine max* L. Merr) in Drought Stress Conditions. *American Journal of Plant Sciences*, 4(1).
- Attia F., Garcia F., Dedieu F., Ben mariem F., Kasraoui M.F., Lamaze T., (2007).** Effet du stress hydrique sur la photosynthèse et la maturité phénolique du cépage Fer Servadou. 8ème Symposium International d'Œnologie, Bordeaux 25-27 juin France.
- Bagga A.K., Ruwal K.N. et Asana R. D., (1970).** Comparison of some Indian and semi-dwarf Mexican wheat to unirrigated cultivation. *Indian J. agric. Sci.* 40: 421- 427 p.
- Bajji M., Lutts S., Kinet J M., (2000).** Water deficit effects on solute contribution to membrane permeability and chlorophyll fluorescence of Okra (*Abelmoschus esculentus* L.) seedlings. *American Journal of Plant Physiology*, 7(4), 174-183.
- Bartels D., Sunkar R., (2005).** Drought and salt tolerance in plants. *Crit Rev Plant Sci*, 24: 23-58pp.
- Benabdelhafid Z., (2016).** Embryogénèse Somaclonale, Variations Somaclonales et Tolérance à la Salinité chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.). (Analyse Génotypique et Moléculaire). Thèse Université Frères. Mentouri. Constantine. p : 4-10.
- Benderradji L., (2013).** Sélection in vitro pour la tolérance aux stress salin et thermique chez le blé tendre (*Triticum aestivum* L.). Thèse. Université Constantine -1- P : 21-23-25-32-40.
- Benghersallah N., (2015).** Effet du stress oxydatif sur différentes variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf) et sur leurs systèmes défensifs. Mémoire master. Université des Frères Mentouri Constantine. P : 1-6-20-21-26.
- Benkhelaf I., (2016).** Stratégies génomiques pour une meilleure tolérance au stress hydrique chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.). Université des Frères Mentouri Constantine 1. Mémoire. p : 1-6-7-11-14-16-17-19-22.
- Benkolli M et Bouzegaia B., (2016).** Etude biochimique de dix variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.) Sous l'effet d'un stress oxydatif généré par un stress hydrique. Mémoire. Université. Mentouri. Constantine. P : 1-5-23
- Bensalem N., Benbitour Z., (2005).** «Analyse d'une stratégie de communication commerciale d'une entreprise industrielle. Cas de la Semoulerie Industrielle de la Mitidja», Mémoire licence sciences commerciales: Institut national de commerce. Alger. 95 p.
- Bentahar S., (2017).** Efficacité de l'utilisation de l'eau chez le blé dur : Etude des mécanismes physiologiques et moléculaires (Protéines Aquaporines) : Définition d'idéotype. Thèse de doctorat. Université des frères mentouri. Constantine.
- Bhargava S et Sawant K., (2013).** Drought stress adaptation: metabolic adjustment osmotic adjustment as a function of leaf ageing in three durum wheat (*Triticum durum* Desf). Cultivars performing differently in arid conditions. 'Plant Science', 160(4), 669-681

- Biancucci M., Mattioli R., Forlani G., Funck D., Costantino P., Trovato M., (2017).** Role of proline and GABA in sexual reproduction of angiosperms. *Front. Plant Sci.*; 6:680.
- Bonjean A., (2001).** Histoire de la culture des céréales et en particulier celle de blé Tendre (*Triticum aestivum* L.). Dossier de l'environnement de l'INRA, 21: 29-37p.
- Bouakez D et Hamadouche I., (2015).** Effet du stress hydrique au stade de germination sur la croissance de quelque génotype du blé dur (*Triticum durum* Desf.). Mémoire. Université Frères Mentouri. Constantine. P : 1-5-15-20-22-25.
- Bouchabke O., Tardieu F., Simonneau T., (2006).** Leaf growth and turgor in growing cells of maize (*Zea mays* L.) respond to evaporative demand under moderate irrigation but not in water-saturated soil. *Plant Cell and Environment*. 29: 1138-1148.
- Bouchoukh I., (2010).** Comportement écophysio-logique de deux Chénopodiacées des genres *Atriplex* et *Spinacia* soumises au stress salin .p 16- 29- 6 -35.
- Boufenara S., Zeghouanf F., Zaghoulane O., (2006).** Guide des principales variétés de céréales à paille en Algérie (blé dur, blé tendre, orge et avoine) », ITGC ICARDA. 1ère édition ITGC. Algérie, 154 p.
- Boukachabia E., (1993).** Contribution à l'étude de quelques mécanismes d'adaptation (*Triticum durum* Desf.). Mémoire de Magister en production et physio Vég. Annaba, 108 P.
- Boulal H., Zaghoulane O., EL Mourid M. et Rezgui S., (2007).** Guide pratique de la conduite des céréales d'automne (blés et orge) dans le Maghreb (Algérie, Maroc, Tunisie). Ed. ITGC, INRA, ICARDA, Algérie, 176 p.
- Bousbaa R., Djekoun A et Ykhlef N., (2013).** Caractérisation moléculaire et association marqueur SSR phénotype pour la tolérance au stress hydrique chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.). *Professor European Scientific Journal*. vol.9, No.12.P :189-195.
- Bousbaa R., (2012).** Caractérisation de la tolérance à la sécheresse chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.). Analyse de la physiologie et de la capacité en production. Thèse. Université. Mentouri. Constantine :4-13-14-17-36-38.
- Bousbaa R., Ykhlef N., Djekoun A., (2009).** Water use efficiency and flag leaf photosynthetic in response to water deficit of durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *World Journal of Agricultural Sciences* 5.5.P:609-616.
- Bousnane I., (2012).** Approches génomiques de l'amélioration du blé dur pour la tolérance aux stress abiotiques. Mémoire master, Université des frères Mentouri Constantine 1/Biologie et Ecologie Végétale. P :3-46-47.
- Bouthiba A. A., Debaeke P., Hamoudi S. A., (2010).** Varietal differences in the response of durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. durum) to irrigation strategies in a semi-arid region of Algeria. *Irrigation Science*. 26: 239-251.
- Braun V., Buchner O., et Neuner G. (2002).** Thermotolerance of photosystem 2 of three alpine plant species under field conditions. *Photosynthetica*, 40(4), 587-595.
- Chaves, M.M., Flexas, J., Pinheiro, C., (2009).** Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. – *Ann. Bot.* 103: 551–560.
- Chantal P., (2009).** Mécanismes d'ouverture des stomates. Cours de biologie végétale :10.
- Chefdor F., (2006).** Recherche d'un phosphorelais multiple impliqué dans la perception et la transduction du signal stress hydrique chez le peuplier (Doctoral dissertation, Orléans).
- Chenafi H., Bouzerzour H., Aidaoui A et Saci A., (2006).** Yield response of durum wheat (*Triticum durum*, Desf) cultivar Waha to deficit irrigation under semi arid growth conditions. *Asian Journal plant Science.*, 5: 854-860.
- Clarck et Mac-Caig., (1982).** Excised leaf water relation capability as an indicator of drought resistance of *Triticum* genotypes. *Can. J. Plant Sci.* 62: 571-576 p.
- Close, T. J., (1996).** Dehydrins: emergence of a biochemical role of a family of plant dehydration and low temperature. *Physiologica Plantarum*, 100(2), 291-296.
- Condon A.G., Richards R.A., Rebetzke G.J., Farquhar G.D., (2004)** Breeding for high water-use efficiency, *J. Exp. Bot.* Article. 55, 2447–2460.
- Cramer G.R., Alberico G.J., Schmidt C., (1994).** Leaf expansion limits dry matter accumulation of salt-stressed maize, *Aust. J. Plant Physiol.* Article. Vol, 21. P:663–674.
- Cramer G.R., (2002).** Salt tolerance is not associated with the sodium accumulation of two maize hybrids. *Aust. J. Plant Physiol.*, 21: 675-692.

- Cronic G.,(2008).**Effet de la contrainte hydrique sur la photosynthèse foliaire :de l'utilisation expérimental des relation A/Ci et ACc.Article.P :4-5-6-7-13-23.
- Dicko M. H., (2006).** Travaux pratique biochimie structurale et enzymologie. Centre de Recherche en Sciences Biologiques Alimentaires et Nutritionnelles. Université.Ouagadougou.P :62-69.
- Djermoun A., (2009).**La production céréalière en Algérie : les principales caractéristiques.Revue Nature et Technologie.1 :45-53pp.
- Dkhil B. B et Denden M.,(2012).** Effect of salt stress on growth, anthocyanins, membrane permeability and chlorophyll fluorescence of Okra (*Abelmoschus esculentus* L.) seedlings. American Journal of Plant Physiology, 7(4), 174-183.
- Drevon J.J .,Saadallah K.,Hajji M., Abdelly C. (2001)** : “Genotypic variability for tolerance to salinity of N2-fixing common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) “, Agronomy, 21, 675-682.
- Dubos, C. (2001).** Réponse moléculaire de jeunes plants de pin maritime soumis à un stress hydrique en milieu hydroponique. Thèse de doctorat. Biologie forestière. INRA. 225 PP.
- El hassani T.A. et Persoons E.,(1994).** Agronomie moderne. Bases physiologiques et agronomiques de la production végétale. (éd). AUPELF-UREF: 544 p.elements in osmotic- and cold-stress-responsive promoters. Trends in Plant Science, 10:88-94.
- FAO a., (2015):** « Statistical Pocketbook – Word Food and Agriculture ».
- FAO b., (2015)** : « Perspectives de l'Alimentation - Les marchés en bref », I5003F/1/10.15.
- FAO., (2016).**Lemarchémondialdu blé. <http://www.fao.org/worldfoodsituation/csdb/fr/>
- FAO.b., (2015) situé dans Gueraiche S., (2016).**Diversité Génétique et Adaptation de quelques variétés de Blé Dur- *Triticum durum* Desf.-Utilisation des marqueurs moléculaires.mémoire.Master. Université des frères Mentouri Constantine 1/Biologie et Ecologie Végétale : 6-7.
- Farineau, J. J., Morot-Gaudry, F.,(2006).**La photosynthèse. Processus physiques, moléculaires et physiologiques", INRA, Paris.156-157pp.
- Farissi M., Ghoulam C ., Bouizgaren A., Fourrages .,(2014)** .Effet de la salinité sur la production et la qualité fourragère de populations de luzerne dans la région de Marrakech-Maroc-219, 271-275-272-273-274pp.
- Farooq M., Ahid A.W.,Obayashi N.K., Uita D.F.,Asra D.,(2009).** Plant drought stress: effects, mechanisms and management.P:4.
- Farooq S et Azami K .,(2001).** Co-Existence of Salt and Drought Tolerance in Triticeae. Hereditas, 135(2-3), 205 210.
- Feillet P., (2000).** Le grain du blé. Composition et utilisation. Ed. INRA, Paris, pp : 17-18.
- Gaid S., (2015).**La tolérance à la salinité du pois chiche(*cicer arietinum* L.).Magister. Université Ahmed ben bala, Oran faculté des sciences Département de biologie, Laboratoire de physiologie végétale : 24.
- Gardés-Albert M., Bonnefont-Rousselot D., Abedinzadeh, Z.,Jore D., (2003).** Espèces réactives de l'oxygène. L'actualité chimique.91-96.
- Haichour R.,(2009).** Stress thermique et limite écologique du Chêne vert. Mémoire. Université Mentouri – Constantine – p : 12-24-49.
- Hamla C.,(2016).** Caractérisation des gènes de tolérance à la sécheresse chez le blé dur : étude du rôle des déhydrines et des aquaporines.Thèse. Université Mentouri,Constantine Faculté de biologie Département de Biologie Végétale et Écologie.p32-33.
- Haouala F., Ferjani H ., Benell Hadj S., (2007).**Effet de la salinité sur la répartition des cations (Na⁺, K⁺ et Ca²⁺) et du chlore (Cl⁻) dans les parties aériennes et les racines du ray-grass anglais et du chiendent. Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 11 (3) ,235 – 244pp.
- Hayoun H.,(2013).**Etude comparative de l'accumulation des déhydrines et mécanisme de tolérances du stress hydrique chez quelques variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.). Université Mentouri,Constantine Faculté de biologie Département de Biologie Végétale et Écologie.p :36-37.
- Herbinger K., Tausz M., Wonisch A., Soja G., Sorger A. et Grill D.,(2002)** .Complex interactive effects of drought and ozone stress on the antioxidant defence systems of two wheat cultivars. Plant Physiol. Biochem. 40: 691 - 696 p.
- Hireche Y. A.,(2006).** Reponse de la luzerne (*Medicago sativa* L) au stress hydrique et à la profondeur de semis. Mémoire de Magister, Université Al Hady Lakhdar-Batna (Algérie), 83p.
- Hospital, F.,(2001).**Size of donor chromosome segments around introgressed loci and reduction of linkage drag in marker-assisted backcross programs. Genetics, 158: 1363 -1379.

- Hsu Y.T et Kao C.H.,(2004).** Phosphinothricin tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings is associated with elevated abscisic acid in the leaves. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 45: 41-48.
- Ibrahim A.M.H. et Quick, J.S., (2001).** Genetic control of high temperature tolerance in wheat as measured by membrane thermostability. *Crop Sci.* 41: 5, (1405-1407.).
- Iskandar H. M., Casu R. E., Fletcher A. T., Schmidt S., Xu J., Maclean D. J., Manners J.M., Bonnett, G. D.,(2011).** Identification of drought-response genes and a study of their expression during sucrose accumulation and water deficit in sugarcane culms. *BMC plant biology*, 11(1), 12.
- Issaad G.,(2013).** Statut nutritionnel et plasticité de réponse aux stress chez un modèle végétale (*Triticum durum* Desf.).Thèse.Université Badji Mokhtar.ANNABA.P :15-16-21-22-27-33-35.
- Jabnoue M., (2008.)**Adaptation des plantes au stress Salin : Caractérisation du transporteur de sodium et potassium de la famille HKT chez le riz .Thèse doctorat,Université. Montpellier II.P :36-37.
- Jackson R.B., J.S. Sperry., Dawston T.E.,(2000).** Root water uptake and transport: using physiological processes in global predictions, *Trends Plant Sci.* 5 (11) (2000) 482–488
- Jangpromma N., Kitthaisong S., Daduang S., Jaisil P. &Thammasirirak S.,(2007).** 18 KDa protein accumulation in sugarcane leaves under drought stress conditions. *Kmitl.Sci. Tech. J.7:* P27- 44
- Jasso D., Romero-Garcia J., Rodriguez-Garcia R., Sanchez J. L., (2002).**Characterisation of proteins from sunflower leaves and seeds: Relationship of biomass and seed yield. *Trends in new crops and new uses.* ASHS Press, Alexandria, VA.
- Jean-Pierre A., Philippe D., Bernard I., Gilles L.,BernardS.François T., Alban T.,(2006).** Sécheresse et agriculture. Réduire la vulnérabilité de l'agriculture à un risque accru de manque d'eau. Expertise scientifique collective, synthèse du rapport, INRA.France. 72 p.
- Kara S et Zerguine M.,(2016).** Dosage des anthocyanes et de la glycine bêtaïne en conditions de stress hydrique et étude des mécanismes de tolérances chez dix variétés du blé dur (*triticum durum* Desf.). Mémoire. Université des Frères Mentouri Constantine1. p : 1-9-19-28-29-34
- Leinonen K et Jones F., (2004).**Effet du stress thermique sur les végétaux. *Agronomie. Infos.*P :10.
- Leonardis A. M., Marone D., Mazzucotelli E., Neffar F., Rizza F., Di Fonzo, N., et Mastrangelo A. M.,(2010).** Durum wheat genes up-regulated in the early phases of cold stress are modulated by drought in a developmental and genotype dependent manner. *Plant science*, 172(5), 1005-1016pp.
- Lepengue A.N.,(2012).**Effet du chlorure de sodium(NaCl)sur la germination et la roissance du maïs (*Zea mays* L.,Poaceae) au Gabon.Article.Université de sciences de technique de Masuku.(241).P :1602-1609.
- Levigner A., Lopez F.,Vansuyt G.,Berthomieu P.,Casse-Delbart F.,(1995).**Les plantes face au stress salin.Chier d'études et recherches Francophones/Agriculture.4 :263-173pp.
- Lezzar H et Meziani A.,(2015).** Recherche in silico et conception d'amorce des gènes de tolérance au stress abiotique chez le blé. Mémoire. Université des Frères Mentouri Constantine1.P :3-10.
- Mahajan S et Tuteja N., (2008).** Calcium- and salt-stress signaling in plants: Shedding light on SOS pathway. *Arch Biochem. Biophys.* 471: 146 – 158p.
- Mansour M et Salama K.,(2004).**Cellular basis of salinity tolerance in plants.*Environmental and Experimental Botany* 52 :P.113-122.
- Mazouz L.,(2006).** Etude de la contribution des paramètres phéno- morphologiques dans l'adaptation du blé dur (*Triticum durum*Desf.) dans l'étage bioclimatique semi-aride .Mémoire de Magistère. Université Hadj Lakhdar Batna.
- Mefti A., Abdelguerfi A., Chebouti A., (2000).** Etude de la tolérance à la sécheresse chez quelques populations de *Medicago truncatula* (L.). *Field Crops Research.* 66: 165-174.
- Melloul, M., Iraqi, D., Udupa, S. M., Erba, G., El Alaoui, M. A., Ibriz, M., & El Fahime, E.,(2014).** Analysis of mRNA Levels of Ten Genes Under Water Stress in *Triticum turgidum* subsp. durum. *Journal of Plant Studies*, 3(1), p65.
- Monneveux P., Belhassen E., (1997).** The diversity of drought adaptation in the wide. *Plant Growth Regulation* 20, 85-92pp.
- Mouellef A., (2010).**Caractères physiologiques et biochimiques de tolérance du blé dur (*Triticum durum*Desf.)au stress hydrique,mémoire. Université Mentouri,Constantine*Faculté de biologie* Département de Biologie Végétale et Écologie.p53.
- Munns R., (2007).**Utilizing genetic resources to enhance productivity of salt-prone land. *CABRev: Perspectives in Agric. Veterinary Sci. Nutr. Nat. Res.* 2. No. 009.

- Munns, R., James, R. A., Lauchli, A.,(2006).**Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *J. Exp. Bot.*, 27: 1025-1043.
- Nabors M., (2008).**Réponse des plantes aux hormones et aux stimuli environnementaux.In : biologie végétal. Structure, fonctionnement, écologie et biotechnologie. Ed. Pearson Education. France. 247p.
- Najdjm, B., El jaafari, S., jlibène, M., Jacquemin, J. M. (2008).**, Application des marqueurs moléculaires dans l'amélioration du blé tendre pour la résistance aux maladies et aux insectes. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 7: 17- 35.
- Neffar F.,(2013).** Analyse de l'expression des gènes impliqués dans la réponse au stress abiotique dans différents génotypes de blé dur (*Triticum durum*) et d'orge (*Hordeum vulgare*) soumis à la sécheresse. Thèse. Université Ferhat Abbas.Sétif.p :42-62-63.
- Orcutt D.M etNilsen E.T., (2000).**Physiology of plants under stress.Institut national agronomique.New York, NY, USA.145-155pp.
- Ouhaddach M.Hmouni M F., ElYacoubi D.,Zidane H., Douaik L.,RochdiAtmane A.,(2015).** Effet du Chlorure de Sodium (NaCl) sur les Paramètres de Germination du blé Tendre (*Triticumaestivum L.*)Article in European Journal of Scientific Research.Vol. 127.No 3.pp :298-299-3.1-310.
- Oukarroum A., (2007).**Vitalité des plantes d'orge (*Hordeum vulgare L.*) en conditions de stress hydrique et thermique analysée par la fluorescence chlorophyllienne. Thèse doctorat. Université De Genève.
- Parida A et Das A.B.,(2005).** Salt tolerance and salinity effects on plants : review.*Ecotox.Environ. Safety*60. P:324-349
- Parwata I., Indradewa D., Yudono P., Kertonegoro B. D., et Kusmarwiyah R.,(2013).** Physiological responses of *Jatropha* to drought stress in Coastal Sandy Land condition. *Makara J Sci*, 16(2), 115-121.
- Paterson, A. H., Tanksley, S. D., Sorrells, M. E.,(1991).** DNA markers in plant improvement. *AdvAgron*, 46: 39 - 90.protein 70 systems to reactivate a heat denatured protein. *Plant Physiol*, 122: 189- 198.
- Plessis A., (2009).** Analysis of *Arabidopsis thaliana* mutants affected in water deficit tolerance. Thèse Doct.
- Richards R. A., Rebtzke G. J., Van Herwaarden A. F., Dugganb B. L., Condon A.,(1997).** Improving yield in rainfed environments through physiological plant breeding. *Dryland Agriculture*, 36: 254-66pp.
- Rukey M.,(2010).**Diverse accumulation of several dehydrin-like proteins in cauliflower (*Brassica oleraceavar.botrytis*),*Arabidopsis thaliana* and yellow lupin(*Lupinusluteus*) mitochondria under cold and heat stress.*plant Biology*.10 :1-17pp.
- Santos, A. B., & Mazzafera, P.,(2013).** Aquaporins and the control of the water status in coffee plants. *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, 25(2): 79-93.
- Sassi K., Abid G., Jemni L., Dridi-Al Mohandes B., et Boubaker M.,(2012).** Étude comparative de six variétés de blé dur (*Triticum durum*. Desf.) vis-à-vis du stress hydrique. *Journal of Animal & Plant Science*. 15(2): 2157-2170.
- Sentenac H., Berthomieu P., (2003).** Découverte d'un nouveau mécanisme de tolérance des plantes au sel. UMR Biochimie et physiologie moléculaire des plantes (Unité mixte Ecole nationale supérieure agronomique de Montpellier /Université/CNRS/ INRA) Service Presse INRA. 34p.
- Silva H., Martínez J.P., Ledent J.F., Pinto M.,(2007).**Effect of drought stress on the osmotic adjustment, cell wall elasticity and cell volume of six cultivars of common beans (*Phaseolus vulgaris L.*), *Eur.J. Agron.* 26, 30–38.
- Srivastava O.P., Gupta R., Asomugha C.O.,(2016)** .The common modification in alpha-crystallin in the lens, N101D, is associated with increased opacity in a mouse model.*J. Biol. Chem.*
- Tanja R.,(2017).** Les effets de la température de l'air sur les végétaux
http://www.cannagardening.ca/frca/les_effets_de_la_temperature_de_lair_sur_les_vegetaux
- Tardieu F.,(2005).** Plant tolerance to water deficit: physical limits and possibilities for progress. In: Académie des Sciences, *Comptes Rendus Geoscience*, n° 337, pp.57-67.
- Temagout M.,(2009).** Analyse de la variabilité de la réponse au stress hydrique chez des lignées recombinantes de Tournesol (*Helianthus annuus L.*). Mémoire magistère. Université des Frères Mentouri Constantine :26-36-61-81.

- Trinchant J.C, Boscardi A, Spennato G, Van de Sype G, and Le Rudulier D. (2004).** ProlineBetaine Accumulation and Metabolism in Alfalfa Plants under NaCl Stress. Exploring Its Compartmentalization in Nodules Plant Physiology, Vol. 135, pp.1583-594.
- Tuteja N.,(2005).** Prokaryotic and eukaryotic: Essential molecular motor proteins for cellular machinery. Eur. J. Biochem. 271, 1835–1848pp.
- Vinocur B et Altman A., (2005).** Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: achievements and limitations. Current opinion in biotechnology, 16(2), 123-132.
- Wang G.,Vinocur P., Altmn A; (2004),**plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance”, plant, P:1-14.**Wang et al., (2004),**sitèin(**Abdi et Zitouni.,(2014).** Dosage de l’acide abscissique en conditions de stress hydrique et thermique et étude des mécanismes de tolérances chez quelques variétés du blé dur (*TriticumdurumDesf.*).Mémoire. Université Mentouri,Constantine Faculté de biologie Département de Biologie Végétale et Écologie.P :62-63.
- Wirth D.,Gustin P., Drion P.V.,Dessy-Doize C., Christians E.S., (2002).** Les protéines de choc thermique (heat shock proteins). I : Classification, structure, fonctions et implications dans les processus pathologiques. Article de synthèse 146, 201-216 201 FORMATION CONTINUE-1.p:202-206.
- Wirth D.,Gustin P., Drion P.V.,Dessy-Doize C., Christians E.S.,(2003).** Les protéines de choc thermique (heat shock proteins-Hsps). II. Hsp70 : biomarqueur et acteur du stress cellulaire.Article de synthèse. 147, 127-144Formation.Continue.P :128-130.
- Wong.,(2009).**Dehydrin-like proteins in desiccation tolerance in intertidal seaweeds.Northeastern.45:176-187pp.
- Yamaguchi-Shinozaki K. et Shinozaki K., (2007).** Organization of cisacting regulatory and regulation of gene expression. Plant Breeding, 132(1), 21-32.
- Yang, S. X., Zhao, Y. X., Zhang, Q., He, Y. K., Zhang, H., Hali, L.,(2001).** Mediated salt adaptation in Arabodopsis thaliana. Cell Res, 11: 142-148.
- Ykhlef N., (2001).**Photosynthèse, Activité photochimique et tolérance au déficit hydrique chez le blé dur (*TriticumdurumDesf.*).Thèse de doctorat. Université Mentouri.Constantine.
- Zerroumda M., (2012).** Approches physiologiques et métaboliques pour la sélection de variétés d’orge tolérantes vis-à-vis d’une contrainte saline. Thèse de doctorat.École Nationale Supérieure Agronomique -El Harrach –Alger Département d’Amélioration des Productions Végétales et Ressources Génétiques : 23-25.
- Zhang S., ZS. Xu, P. Li, L. Yang, Y. Wei, M. Chen, L. Li, G. Zhang, Y. Ma.,(1999).** Overexpression of TaHSF3 in transgenic Arabidopsis enhances tolerance to extreme temperatures. Plant Molecular Biology Reporter., 31: 688–697pp.
- Zhu, J.-K.,(2001).**Plant salt tolerance. Trends Plant.ArticleSci. Vol,6.P:66-71.
- Zid E et Grignon C.,(1991).** Les tests de sélection précoce pour la résistance des plantes au stress. Cas des stress salin et hydrique. Dans : L’Amélioration des Plantes pour l’Adaptation aux Milieux Arides. Ed. AUPELF-UREF, John LibbeyEurotext, Paris, pp. 91-108.

Annexe

Annexe.01

Solution nutritive de Broughton et Dillworth
(BD)

1) CaCl ₂ 2H ₂ O	2M	5ml/10L
2) KH ₂ PO ₄	1M	5ml/10L
3) MgSO ₄ 7H ₂ O	0.5 M	5ml/10L
K ₂ SO ₄	0.5 M	
MnSO ₄	2 mM	
4) Fe, EDTA	195 Mm	12.5 ml/L
5) Oligoelements		5 ml/ 10L
H ₃ BO ₃	4 mM	
MgSO ₄ 7H ₂ O	1 mM	
CuSO ₄ 5H ₂ O	0.4 mM	
CO ₂ SO ₄ 7H ₂ O	0.2 mM	
NaMo O ₄ 2H ₂ O	0.2 mM	

❖ Ces volumes sont valables pour une préparation de 5L du milieu BD.

Annexe.02

Solution et tampon utilisés pour SDS-PAGE

➤ Solution d'acrylamide : bis acrylamide T=30% C=2.67%

Acrylamide	30g
N,N'méthylènebisacrylamide	0.8g
Eau distillée	100ml

➤ Solution APS (Ammonium Persulfate) à 10%

APS	1g
Eau distillée	10ml

➤ Solution stock de SDS (Sodium dodécyl sulfate) à 10%

SDS	10g
Eau distillée	100ml

Solutions de l'extraction des protéines totales

➤ Solution de précipitation (A)

TCA (100%)	10 ml (10g TCA/100ml acetone)	→	10%
β-mercaptoéthanol	70 ml	→	0.07%
Acétone Qsp			100ml

-Conserver la solution à -20°C

➤ Solution de rinçage (B)

β -mercaptoéthanol	70 ml	→	0.07%
Acétone Qsp			100ml

-Conserver la solution à -20°C

➤ Tampon Laemmli 2X

TrisHCl pH6.8:	1.25ml
100% Glycèrol:	2.5ml
10% SDS:	2ml
Bleu de bromophénol:	0.2ml
Eau distillée :	9.5ml

-Conserver la solution à 4°C

➤ Tampon d'électrophorèse 10XpH 8.3

Tris base	30.30g
Glycine	144.10g
SDS	10g
H2O	1L

➤ Solution de coloration (pour un seul gel)

Solution mère de Bleu de Coomassie R-250	250 mg
Méthanol	400ml
Acide acétique	70ml
H ₂ Odi	Qsp1L

➤ **Solution mère de bleu de Coomassie R250**

Bleu de Coomassie R250	10 g
Ethanol 95° Qsp	1000 ml

➤ **Solution de décoloration**

Méthanol	50ml
Acide acétique	70ml
H ₂ O	Qsp 1L

Composition de KIT(LMW)

Protéines	Poids moléculaire (KDa)
Phosphorylase b	97
Albumin	66
Ovalbumin	45
Carbonic	
Anhydrase	30
Trypsin inhibitor	20
α-Lactalbumin	14

Annexe.03

Préparation des gels

➤ **Gel de séparation (running gel) T=15%**

Acry-bis40%	2.2ml
Tris-Hcl.pH8,8(1.5M)	1.5ml
SDS10%	60 µl
APS 10%	30µl
TEMED	6 µl
H ₂ O	2.15ml
Volume finale	6ml

➤ **Gel de concentration (stacking gel) T=4%**

Acry-bis40%	0.2ml
Tris-Hcl.pH6,8(0.5M)	0.5ml
SDS10%	20 µl
APS10%	10 µl
TEMED	2 µl
H ₂ O	1.27ml
Volume finale	2ml

Encadrant: Pr. Nadia. Ykhlef

Soutenu le : 15/06/2017

Etudiant: Melle. AMROUCHE Iméne

Melle. MESBAH El-kahinaAkila

Titre : Effet de stress abiotique sur l'accumulation des protéines totales chez deux variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.)

Résumé :

Le blé dur est considéré comme une culture stratégique en Algérie caractérisée par un climat arides et semi-arides. Toute fois, la croissance de cette culture et l'amélioration de son rendement son limités par le manque d'eau, la température élevée et la salinité des sols ainsi que des eaux d'irrigation.

La compréhension des mécanismes moléculaires de tolérance au stress chez le blé, demeure primordiale afin de pallier aux effets néfastes du stress, les stratégies adaptatives mises en place par cette céréale induisent des modifications dans les programmes transcriptionnels d'un assortiment de gènes conduisant à la synthèse de protéines dite protéines de stress par la technique d'électrophorèse SDS-PAGE.

L'études actuelles s'est fixée comme objectif, de réaliser une étude comparative du comportement de deux variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf) qui sont Waha et Bousselem, en réponse à un stress sévère pendant 4h,tout en ajoutant 200mM de NaCl pour un stress salin, 20% de PEG pour le stress hydrique, et une température de 45° pour un stress thermique ces dernies sont appliqués au stade trois feuilles début de l'apparition de la quatrième feuille, cette comparaison est établie au niveau physiologique et biochimique, en se focalisant sur le profil d'expression des gènes de réponse au stress.

Les résultats obtenus ont montrés que les trois stress appliqués causent des changements dans les différents paramètres étudiés chez les deux génotypes, la sensibilité des deux variétés a été observée d'une manière variable d'un génotype à l'autre. En outre, il s'est résulté que les deux variétés mettent en place les mêmes mécanismes pour répondre au stress appliqués.

Mots clés : blé dur, stress abiotique, PEG, NaCl, protéines de stress, SDS-PAGE

Laboratoire de recherche : Génétique Biochimie et Biotechnologie végétale

Jury d'évaluation :

Président : Mme. BOUSBA Ratiba (MCA-UFM Constantine).

Encadrant : Pr. YKHLEF Nadia (Professeur UFM Constantine).

Examineur : MOUELLEF Adra (UFM Constantine).

Année universitaire

2016 – 2017