



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

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



Université des Frères Mentouri Constantine 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Biologie et Ecologie Végétale

قسم : البيولوجيا و علم البيئة النباتية

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologies

Spécialité : *Biotechnologie et Génomique Végétale*

Intitulé :

**Etude comparative des effets du stress salin et hydrique sur
la germination et sur le comportement physiologique et
biochimique de deux variétés de blé dur.**

Présenté et soutenu par : *AISSANI Nadjwa*

Le : 17/07/2019

Jury d'évaluation :

Président du jury :	Pr. <i>YKHLEF Nadia</i>	Prof - UFM Constantine.
Encadrant :	Dr. <i>HAMLA Chourouk</i>	MCB - UFM Constantine.
Examineur :	Mlle. <i>MOUELLEF Adra</i>	MAA - UFM Constantine.

*Année universitaire
2018 - 2019*

الحمد لله حمدا كثيرا مباركا فيه

Remerciements

Tout d'abord, je rends grâce à Dieu pour sa miséricorde et ses bénédictions.

J'adresse mes plus sincères remerciements aux responsables du laboratoire de recherche qui m'ont offert l'opportunité de réaliser ce mémoire.

*Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance et mon respect à l'égard de mon promoteur **Dr. Hamla Chourouk**, maître de conférences à l'université Mentouri Constantine, pour avoir accepté de m'encadrer ainsi que pour ses précieux conseils et orientations, sa disponibilité, sa gentillesse, sa patience, sa modestie tout comme l'intérêt bienveillant qu'elle a manifesté envers moi qu'elle trouve ici le témoignage de ma profonde gratitude.*

*Mes plus vifs remerciements vont aussi au **Pr. Ykhlef Nadia**, professeur à l'université Mentouri Constantine pour avoir bien voulu me faire l'honneur de présider le jury. Ainsi qu'au **Mlle. Mouellef Adra**, maître assistante à l'Université Mentouri Constantine pour avoir accepté d'examiner ce travail et d'être membre de ce jury.*

*Il m'est également agréable d'exprimer ma profonde gratitude et mes plus sincères remerciements à tous mes enseignants qui m'ont assurés des études de haut niveau et qui m'ont permis d'acquérir de nombreuses connaissances ; en particulier : **Dr. Hamouda Dounia, Dr. Bousba Ratiba, Dr. Benabdoun Meriem Faiza, Dr. Kacem Nadia Sandra, Dr. Temagoult Mahmoud, Dr. Benbelkacem Abdelkader, Mr. Kellou Kamel** ainsi que mon encadrant **Dr. Hamla Chourouk**.*

*Je remercie tout aussi vivement l'ensemble du personnel technique du laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologies Végétales (GBBV) : **Mr. Belbekri Nadir, Mme. Bouldedj Ryma et Mlle. Zahraoui Chafika** pour leur disponibilité et leur aide.*

Je tiens, enfin à remercier tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin par un geste, une parole ou un conseil avisé.

Merci à tous...

Merci pour tout...

Dédicace

Avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie, je dédie mon travail à mes très chers respectueux et magnifique parents Azeddine et Sonia qui m'ont soutenus toute au long de ma vie;

À mes grands pères adorés Boukhemis et Mahmoud, pour tout l'amour et l'affection dont vous m'avez toujours entouré;

À la mémoire de ma grande mère Sakina. Comment t'oublier? Ton sourire et ta bonté restent encore gravés dans ma mémoire, j'imagine qu'elle serait ta joie aujourd'hui, j'aurais voulu que tu assistes à l'aboutissement de ces années de dur labeur, Dieu en a décidé autrement. Que Dieu t'accorde la paix éternelle et t'accueille dans son paradis;

À mes deux sœurs Lina et Farah et mes frères Fateh et Ismail, à qui je souhaite un avenir radieux plein de réussite;

À mes oncles Hamza, Rahim et Badis et mes très chères tantes Nora, Fatima et Farida. Vous qui avez toujours été là pour me soutenir et m'encourager;

À mes très chères amies Rahma, Asma, Chahinez, shahrazed, Khawla, Hadjer, Amina et Amani. Je vous dédie ce travail en témoignage de ma grande affection et en souvenir des agréables moments passés ensemble. Vous êtes les meilleures;

À tous mes proches, même si je ne puis vous citer un à un, je ne vous oublie pas;

À mes deux familles, Aissani et Bouhdjar.

Nadjma

Résumé :

La compréhension des mécanismes de tolérance au stress chez le blé, demeure primordiale afin de pallier aux effets néfastes du stress et dévoiler les stratégies adaptatives mises en place par cette céréale.

Deux variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.) Beliouni et Waha ont été utilisées dans nos expérimentations. Dans un premier temps, une étude de la germination a été réalisée en présence de NaCl (0, 100 et 200mM) et en présence de PEG-6000 (0, 10 et 20%), en prenant en compte différentes variables représentatives de la réponse des variétés étudiées à ce stade. Ces mêmes variétés ont été ensuite cultivées en chambre de culture pendant trois semaines (stade troisième feuille), à l'issue desquels le lot de plantes stressées fut irrigué avec des solutions contenant les deux osmoticum (NaCl et PEG-6000) suivant les concentrations précédemment mentionnées. Différents paramètres ont été considérés : le taux de chlorophylle, la teneur relative en eau, le taux de sucres solubles et le taux de proline, ainsi que l'électrophorèse SDS-PAGE des protéines foliaires totales.

Les résultats obtenus ont montré que le NaCl et le PEG-6000 ont un effet dépressif sur le taux de germination et sur la croissance des plantules. Un effet qui varie en fonction de l'intensité du stress et de la variété considérée. Cela a également induit des différences notables aussi bien pour le taux de sucres et de proline qui se traduisent par une hausse des valeurs observées. Que pour la teneur relative en eau et le taux de chlorophylle qui ont tendance à diminuer en présence de stress. Le PEG-6000 s'est avéré être l'osmoticum le plus préjudiciable. Les différences observées concernant les bandes protéiques révélées par SDS-PAGE, touchent aussi bien le poids moléculaire et l'intensité. Les deux variétés étudiées répondent toutes deux aux agents de sélection, mais dans des proportions différentes qui varient également en fonction du type d'osmoticum et de la sévérité du stress.

Mots clés : Blé dur, NaCl, PEG-6000, germination, tolérance, troisième feuille.

Abstract:

Understanding the mechanisms of stress tolerance in wheat remains essential in order to cope with the stress negative effects and to pinpoint the involved adaptive strategies.

Two varieties of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) Beliouni and Waha were used in our experiments. Initially, a study of germination was carried out using NaCl (0, 100 and 200mM) and PEG-6000 (0, 10 and 20%), while considering various representative variables for the genotype responses at this stage. These same varieties were then cultivated in growth culture for three weeks (at the third leaf stage), followed by a stress application using the same solutes with the concentrations mentioned above. Various parameters were considered: chlorophyll content, relative water content, soluble sugar and proline content, as well as an SDS-PAGE electrophoresis of total leaf proteins.

The obtained results showed that NaCl and PEG-6000 have a depressive effect on germination rate and seedling growth. This effect varies according to the stress severity and the considered variety. It also led to notable differences in sugar and proline contents which resulted in a rise of the initial values. As well as in the relative water content and the chlorophyll content, but with a tendency to decrease under stress. The observed differences regarding protein bands revealed by SDS-PAGE electrophoresis affected the molecular weight and the band intensity. Both studied varieties responded to the use of selective agents but in a different extent which also varies according to the solute and stress severity.

Key words: Durum wheat, NaCl, PEG-6000, germination, tolerance, third leaf.

ملخص :

يظل فهم آليات تحمل الإجهاد في القمح أمرًا ضروريًا للتخفيف من الآثار الضارة للإجهاد والكشف عن الاستراتيجيات التكيفية التي تستخدمها هذه الحبوب.

تم استخدام صنفين من القمح الصلب (*Triticum durum* Defs.) Waha و Beliouni في تجاربنا. في الخطوة الأولى ، أجريت دراسة إنبات في وجود كلوريد الصوديوم (0mM و 100 mM و 200 mM) و PEG-6000 (10% و 20%)، مع الأخذ بعين الاعتبار المتغيرات المختلفة التي تمثل استجابة الأصناف التي تمت دراستها في هذه المرحلة. تم زراعة هذه الأصناف نفسها في غرفة الزراعة لمدة ثلاثة أسابيع (مرحلة الورقة الثالثة)، و بعدها تم سقي مجموعة النباتات المجهدة بالمحاليل التي تحتوي على كل من الأسموزيوم (NaCl و PEG-6000) وفقًا للتركيزات المذكورة سابقًا. تم أخذ معايير مختلفة بعين الاعتبار مستوى الكلوروفيل ، المحتوى النسبي للماء ، محتوى السكر القابل للذوبان ، ومستوى البرولين ، بالإضافة إلى الهجرة الكهربية SDS-PAGE لبروتينات الأوراق الكلية.

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن كلوريد الصوديوم و PEG-6000 لهما تأثير سلبي على معدل الإنبات ونمو البذور بحيث يختلف التأثير باختلاف شدة الإجهاد والصنف المعتبر. وقد أدى ذلك إلى اختلافات ملحوظة في مستويات السكر و البرولين، التي ترجمت بارتفاع القيم الملاحظة. ماعدا لمحتوى الماء النسبي ومعدل الكلوروفيل اللذان يميلان إلى الانخفاض في وجود الإجهاد. اتضح أن PEG-6000 هو الأسموزيوم الأكثر ضارا. الاختلافات الملحوظة في نطاقات البروتين التي كشفت عنها الهجرة الكهربية تؤثر على كل من الوزن الجزيئي و الشدة. يستجيب كلا الصنفين المدروسين لعوامل الاختيار ، ولكن بنسب مختلفة تختلف أيضًا تبعًا لنوع الاسموزيوم وشدة الإجهاد .

الكلمات المفتاحية : قمح صلب، كلوريد الصوديوم، PEG-6000، الإنبات، التحمل، الورقة الثالثة.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification taxonomique du blé dur.....	4
Tableau 2 : Poids moléculaire des protéines de références du Kit LMW (<i>Low Molecular Weight</i>).....	37
Tableau 3 : Carrés moyens de l'analyse de variance du pourcentage de germination finale (G, %) des deux variétés de blé dur testées à 0, 100 et 200 mM de NaCl.....	41
Tableau 4 : Carrés moyens de l'analyse de variance du pourcentage de germination finale (G, %) des deux variétés de blé dur testées à 0, 10 et 20% de PEG-6000.....	41
Tableau 5 : Carrés moyens de l'analyse de variance du pourcentage de germination finale (G, %), des longueurs racinaires (LR), du nombre de racines (NBR) et de la longueur des épicotyles (LE) des deux variétés de blé dur testées sous conditions de stress salin.....	52
Tableau 6 : Carrés moyens de l'analyse de variance du pourcentage de germination finale (G, %), des longueurs racinaires (LR), du nombre de racines (NBR) et de la longueur des épicotyles (LE) des deux variétés de blé dur testées sous conditions de stress hydrique.....	52
Tableau 7 : Carrés moyens de l'analyse de variance de la teneur relative en eau (TRE) et du taux de chlorophylle (SPAD index) des deux variétés de blé dur testées à 0, 100 et 200 mM de NaCl.....	58
Tableau 8 : Carrés moyens de l'analyse de variance de la teneur relative en eau (TRE) et du taux de chlorophylle (SPAD index) des deux variétés de blé dur testées à 0, 10 et 20% de PEG-6000.....	59
Tableau 9 : Carrés moyens de l'analyse de variance de la teneur en proline (Pro) et en sucres solubles (Suc) des deux variétés de blé dur testées à 0, 100 et 200 mM de NaCl.....	64
Tableau 10 : Carrés moyens de l'analyse de variance de la teneur en proline (Pro) et en sucres solubles (Suc) des deux variétés de blé dur testées à 0, 10 et 20% de PEG-6000.....	65
Tableau 11 : Récapitulatif du nombre de bandes révélées par électrophorèse SDS-PAGE de la variété Belioni sous conditions normale et stressante.....	68
Tableau 12 : Récapitulatif du nombre de bandes révélées par électrophorèse SDS-PAGE de la variété Waha sous conditions normale et stressante.....	69
Tableau 13 : Diagramme présence/absence des bandes dans les feuilles des deux géotypes de blé dur étudiés en condition contrôle (T : témoin) en présence de NaCl (1 : 100 mM, 2 : 200 mM) et en présence de PEG-6000 (3 : 10%, 4 : 20%). (1 pour présence, 0 pour absence).....	69

Liste des figures

Figure 1 : Le croissant fertile	5
Figure 2 : Origine génétique du blé	5
Figure 3 : Voies de signalisation responsables de l'exclusion du Na ⁺ chez <i>Arabidopsis</i> sous..... stress salin	19
Figure 4 : L'exclusion et la compartimentation vacuolaire du Na ⁺	20
Figure 5 : Graines des deux variétés de blé dur utilisées dans l'étude (Beliouni et Waha)....	24
Figure 6 : Dispositif utilisé pour la germination	26
Figure 7 : Dispositif utilisé pour l'essai en pots.....	29
Figure 8 : Chlorophylle mètre <i>minolta</i> SPAD 502.....	31
Figure 9 : Courbe d'étalonnage de la proline.....	33
Figure 10 : Courbe d'étalonnage des sucres solubles	34
Figure 11 : Dispositif d'électrophorèse SDS-PAGE des protéines totales	38
Figure 12 : Evolution de la capacité de germination sous condition contrôle (0 mM) et sous différentes conditions de stress salin (NaCl à 100 et 200 mM) chez les deux variétés de blé dur étudiées. Les valeurs constituent les moyennes ± écarts types (n=3)	39
Figure 13 : Evolution de la capacité de germination sous condition contrôle (0%) et sous différentes conditions de stress hydrique (PEG-6000 à 10% et 20%) chez les deux variétés de blé dur étudiées. Les valeurs constituent les moyennes ± écarts types (n=3)	40
Figure 14 : Effets de différentes concentrations de NaCl (0, 100 et 200 mM) sur la moyenne journalière de germination des variétés de blé dur étudiées. Les valeurs constituent les moyennes ± écarts types (n=3).....	42
Figure 15 : Effets de différentes concentrations de PEG-6000 (0, 10% et 20%) sur la moyenne journalière de germination des variétés de blé dur étudiées. Les valeurs constituent les moyennes ± écarts types (n=3)	43
Figure 16 : Effets de différentes concentrations de NaCl (0, 100 et 200 mM) sur la cinétique de germination de la variété Beliouni	45
Figure 17 : Effets de différentes concentrations de PEG-6000 (0, 10% et 20%) sur la cinétique de germination de la variété Beliouni.....	45
Figure 18 : Effets de différentes concentrations de NaCl (0, 100 et 200 mM) sur la cinétique de germination de la variété Waha.....	46
Figure 19 : Effets de différentes concentrations de PEG-6000 (0, 10% et 20%) sur la cinétique de germination de la variété Waha.	46

Liste des figures

- Figure 20 :** Evolution de la longueur racinaire sous condition contrôle (0 mM) et sous différentes conditions de stress salin (NaCl à 100 et 200 mM) chez les variétés de blé dur étudiées. Les valeurs constituent les moyennes \pm écarts types (n=3)..... 47
- Figure 21 :** Evolution de la longueur racinaire sous condition contrôle (0%) et sous différentes conditions de stress hydrique (PEG-6000 à 10% et 20%) chez les variétés de blé dur étudiées. Les valeurs constituent les moyennes \pm écarts types (n=3)..... 48
- Figure 22 :** Nombre de racines sous condition contrôle (0 mM) et sous différentes conditions de stress salin (NaCl à 100 et 200 mM) chez les variétés de blé dur étudiées. Les valeurs constituent les moyennes \pm écarts types (n=3)..... 49
- Figure 23 :** Nombre de racines sous condition contrôle (0%) et sous différentes conditions de stress hydrique (PEG-6000 à 10% et 20%) chez les variétés de blé dur étudiées. Les valeurs constituent les moyennes \pm écarts types (n=3)..... 50
- Figure 24 :** Evolution de la longueur des épicotyles sous condition contrôle (0 mM) et sous différentes conditions de stress salin (NaCl à 100 et 200 mM) chez les variétés de blé dur étudiées. Les valeurs constituent les moyennes \pm écarts types (n=3). 51
- Figure 25 :** Evolution de la longueur des épicotyles sous condition contrôle (0%) et sous différentes conditions de stress hydrique (PEG-6000 à 10% et 20%) chez les variétés de blé dur étudiées. Les valeurs constituent les moyennes \pm écarts types (n=3)..... 51
- Figure 26 :** Variation de la teneur en chlorophylle (SPAD index) sous différentes conditions de stress salin (NaCl à 0, 100 et 200 mM) chez les deux variétés de blé dur étudiées après une semaine d'exposition. Les valeurs constituent les moyennes \pm écarts types (n=3) 54
- Figure 27 :** Variation de la teneur en chlorophylle (SPAD index) sous différentes conditions de stress Hydrique (PEG-6000 à 0, 10% et 20%) chez les deux variétés de blé dur étudiées après une semaine d'exposition. Les valeurs constituent les moyennes \pm écarts types (n=3)..55
- Figure 28 :** Variation de la teneur relative en eau (TRE) sous différentes conditions de stress salin (NaCl à 0, 100 et 200 mM) chez les variétés de blé dur étudiées après une semaine d'exposition. Les valeurs constituent les moyennes \pm écarts types (n=3) 57
- Figure 29 :** Variation de la teneur relative en eau (TRE) sous différentes conditions de stress Hydrique (PEG-6000 à 0, 10% et 20%) chez les deux variétés de blé dur étudiées après une semaine d'exposition. Les valeurs constituent les moyennes \pm écarts types (n=3) 58
- Figure 30 :** Variation de la teneur en prolines sous différentes conditions de stress salin (NaCl à 0, 100 et 200 mM) chez les deux variétés de blé dur étudiées après une semaine d'exposition. Les valeurs constituent les moyennes \pm écarts types (n=3) 61
- Figure 31 :** Variation de la teneur en prolines sous différentes conditions de stress hydrique (PEG-6000 à 0, 10% et 20%) chez les deux variétés de blé dur étudiées après une semaine d'exposition. Les valeurs constituent les moyennes \pm écarts types (n=3) 61
- Figure 32 :** Variation de la teneur en sucres solubles sous différentes conditions de stress salin (NaCl à 0, 100 et 200 mM) chez les deux variétés de blé dur étudiées après une semaine d'exposition. Les valeurs constituent les moyennes \pm écarts types (n=3) 63

Liste des figures

- Figure 33 :** Variation de la teneur en sucres solubles sous différentes conditions de stress hydrique (PEG-6000 à 0, 10% et 20%) chez les deux variétés de blé dur étudiées après une semaine d'exposition. Les valeurs constituent les moyennes \pm écarts types (n=3) 64
- Figure 34 :** Profil électrophorétique SDS-PAGE des protéines totales extraites à partir des feuilles de la variété Belioni soumise un stress salin et hydrique (M = Marqueur de taille (poids moléculaire en KDa), T = Belioni témoin) 66
- Figure 35 :** Profil électrophorétique SDS-PAGE des protéines totales extraites à partir des feuilles de la variété Waha soumise un stress salin et hydrique (M = Marqueur de taille (poids moléculaire en KDa), T = Waha témoin) 66

Liste des abréviations et des acronymes

ABA : acide abscissique.

AFLP : Amplification Fragment Length Polymorphism « Polymorphisme de Longueur des Fragments Amplifiés ».

AtAVP1 : Gène vacuolaire H⁺-pyrophosphatase d'Arabidopsis.

AtNHX1 : Gène codant pour l'antiport vacuolaire Na⁺/H⁺

B : Beliouni.

FAO : Organisation Des Nations Unies pour L'alimentation et Agriculture.

HSP: Heat-shock protéins

KDa: Kilodalton.

LEA : Late Embryogenesis Abundant proteins.

NaCl : chlorure de sodium.

OGM : Organisme génétiquement modifié

PEG : Poly éthylène glycol

ROS : Reactive Oxygen Species « espèces réactives de l'oxygène ».

SAM : sélection assistée par des marqueurs

SDS : Dodécylsulfate de sodium.

SDS-PAGE : sodium dodecyl sulfate–polyacrylamide gel electrophoresis.

SOS : Salt Overly Sensitive.

TCA : acide trichloroacétique.

TCT : taux de chlorophylle totale.

TEMED : Tétraméthyl-Ethylène-Diamine.

Tris : Tris-Hydroxyméthyl-Aminométhane.

W : Waha.

Sommaire

Introduction	1
--------------------	---

CHAPITRE I : Revue bibliographique

1. Le blé.....	3
1.1. Généralité sur la céréaliculture.....	3
1.2 Classification botanique du blé	3
1.3. Origine génétique	4
1.4. Importance économique et nutritionnelle.....	6
2. Les stress hydrique et salin chez les plantes.....	7
2.1. Notion de stress	7
2.2. Stress abiotique	7
2.3. Stress hydrique	7
2.3.1. Influence du stress hydrique sur la germination.....	8
2.3.2. Influence du stress hydrique sur la morphologie de la plante	8
2.3.3. Influence du stress hydrique sur la physiologie de la plante.....	9
2.4. Stress salin.....	10
2.4.1. Influence du stress salin sur la germination	10
2.4.2. Influence du stress salin sur la morphologie de la plante.....	11
2.4.3. Influence du stress salin sur la physiologie de la plante	11
3. Mécanismes d'adaptation aux stress salin et hydrique.....	12
3.1. Régulation stomatique et capacité photosynthétique	13
3.2. Maintien de la balance hydrique et accumulation des osmolytes	13
3.2.1. Les sucres solubles	14
3.2.2. La proline	14
3.3. Les protéines impliquées dans la réponse aux stress.....	15
3.3.1. Les aquaporines.....	15
3.3.2. Les protéines LEA.....	16
3.3.3. Les protéines HSP	17
4. Mécanismes d'adaptation au stress ionique	17
4.1. L'exclusion des sels	18
4.2. La compartimentation vacuolaire ou l'inclusion.....	19
4.3. La sélectivité	20
5. Approches biotechnologiques pour l'amélioration de la tolérance au stress	21
5.1. La transgénèse	21
5.2. Les marqueurs moléculaires.....	22

CHAPITRE II : Matériel et méthodes

1. Matériel végétal.....	24
2. Mise en place de l'essai.....	25
3. Essai 01 : Effet des stress salin et hydrique sur la germination.....	25
3.1. Condition de germination.....	25
3.2. Paramètre étudiés	26
3.2.1. Taux de germination final (G, %)	26
3.2.2. Indice de tolérance (IT)	26

Sommaire

3.2.3. Cinétique de germination (CG, %)	27
3.2.4. Germination moyenne journalière (MDG, %)	27
3.2.5. Réversibilité de l'action du stress	27
3.2.6. Nombre de racines (NBR)	27
3.2.7. Longueur racinaire (LR, cm)	28
3.2.8. Longueur des épicotyles (LE, cm)	28
3.2.9. Analyse et traitement des données	28
4. Essais 02 : Effet des stress salin et hydrique sur des caractères physiologiques et biochimiques	28
4.1. Germination	28
4.2. Mise en culture et application de stress	29
4.2.1. Application des stress	29
4.3. Paramètres physiologiques et biochimique étudiés	30
4.3.1. Taux de chlorophylle totale (SPAD index, TCT)	30
4.3.2. Teneur relative en eau (TRE, %)	31
4.3.3. Dosage de la proline ($\mu\text{g}/100\text{mg MF}$)	32
4.3.4. Dosage des sucres solubles ($\mu\text{g}/100\text{mg MF}$)	33
4.3.5. Analyse et traitement des données	34
4.4. Électrophorèse monodimensionnel SDS-PAGE	34
4.4.1. Extraction des protéines totales foliaires	35
4.4.2. Préparation et coulage des gels	36
4.4.3. Dépôt des échantillons et migration	37
4.5.4. Révélation des gels	38
4.3.5. Traitement des données	38

CHAPITRE III : Résultats et discussion

1. Effet des stress salin et hydrique sur la germination	39
1.1. Variation des taux de germination finale (G, %) et indice de tolérance (IT)	39
1.2. Variation de la germination moyenne journalière (MDG, %)	42
1.3. Evolution de la cinétique de germination (CG, %)	44
1.4. Evolution des longueurs racinaires (LR, cm) et nombre de racines (NBR)	47
1.5. Evolution des longueurs de l'épicotyles (LE, cm)	50
1.6. Réversibilité de l'action du stress	53
2. Effet des stress salin et hydrique sur des caractères physiologiques et biochimiques	54
2.1. Evolution de la teneur en chlorophylle total (SPAD index, TCT)	54
2.2. Détermination de la teneur relative en eau (TRE, %)	56
2.3. Evolution des teneurs en proline ($\mu\text{g}/100\text{mg MF}$)	60
2.4. Evolution des teneurs en sucres solubles ($\mu\text{g}/100\text{mg MF}$)	62
2.5. Profils électrophorétiques des protéines totales	65
Conclusion	72
Références bibliographiques	74
Annexes	85

Introduction

Les céréales occupent à l'échelle mondiale, une place primordiale dans les programmes de recherche agricoles (Slama et *al.*, 2005). En Algérie, cette place est tout aussi importante dans la mesure où le pays cherche à atteindre l'autosuffisance. Toutefois, la céréaliculture algérienne reste très dépendante des conditions climatiques. Cette dernière est d'ailleurs très influencée par les effets néfastes des stress abiotiques notamment le stress salin et le stress hydrique (Djermoune, 2009).

La sécheresse et la salinité sont les contraintes environnementales qui causent le plus de dommage aux productions agricoles. En effet, chaque année les surfaces perdues à cause de ces deux stress sont considérables. Un milliard d'hectares sont menacés dans le monde dont 3,2 millions en Algérie (Toumi et *al.*, 2014).

Cette dégradation du couvert végétal est surtout valable pour les zones arides et semi-arides où les changements climatiques deviennent de plus en plus contraignants pour la croissance et le développement des plantes. Ces écosystèmes sont caractérisés par une forte irrégularité des précipitations (Rezgui et *al.*, 2004) associée à une importante évaporation favorisant l'accumulation des sels dans le sol (Hkayet et Abdelly, 2004).

Pour faire face à de telles situations hostiles, les plantes ont développé des stratégies en mettant en place des mécanismes de réponse leur permettant d'ajuster leur système métabolique. La tolérance est un phénomène complexe, faisant intervenir de nombreux éléments. Ces derniers interagissent entre eux et agissent en synergie afin d'aboutir à une réponse coordonnée et efficace (Oukkaroum, 2007).

Les techniques de biotechnologies végétales se sont avérées efficaces d'une part pour comprendre ces mécanismes d'adaptation et d'autre part afin de créer un matériel végétal tolérant aux différentes formes de contraintes environnementales (salinité, sécheresse...etc.) permettant ainsi aux aires de cultures d'assurer une meilleure suffisance alimentaire (Benderradji et *al.*, 2016).

Dans ce contexte et à travers notre étude nous avons tenté de répondre aux objectifs suivants :

- Evaluer le comportement germinatif de deux variétés de blé dur soumises à un stress salin imposé par le biais du NaCl et un stress hydrique imposé par l'utilisation du PEG-6000.
- Effectuer une étude comparative de quelques mécanismes de réponse relatif aux stress hydrique et salin.

Ce mémoire est structuré en trois grands chapitres qui sont devancés par une introduction :

- Le chapitre I, représente une synthèse bibliographique mettant l'accent sur l'importance du matériel végétal ayant fait l'objet de cette étude. Mais aussi l'impact du stress hydrique et salin sur les plantes et les mécanismes d'adaptation mise en place pour face à ces deux contraintes. Pour finir avec un petit aperçu sur les approches utilisées pour l'amélioration de la tolérance.
- Le chapitre II, englobe une description du matériel végétal, des conditions de culture et des paramètres d'analyse choisis pour répondre aux objectifs fixés.
- Le chapitre III, est quant à lui réservé à la description des résultats ainsi que leurs discussions. Pour finir le manuscrit est soldé par une conclusion et des perspectives.

Chapitre I Revue bibliographique

1. Le blé

1.1. Généralité sur la céréaliculture

Les grains des céréales ont été parmi les premiers à être cultivés et récoltés. Les anciennes civilisations prospérèrent en partie grâce à leur aptitude à produire, engranger et distribuer ces grains principalement le blé, le riz et l'orge (Choueiri, 2003).

Selon la FAO (2019), la production mondiale de céréales en 2019 entrevoit une hausse de 1,2 pour cent par rapport à l'année 2018, soit un volume de 2,685 milliards de tonnes.

En Algérie, tout comme en Afrique du Nord, ces cultures représentent la principale spéculation et draine plusieurs activités de transformation; en semoulerie, en boulangerie et en industrie alimentaire. Elles constituent également la base de l'alimentation et occupent une place privilégiée dans les habitudes alimentaires des populations aussi bien dans les milieux ruraux qu'urbains (Aidani, 2015).

Toutefois malgré les superficies et les efforts fournis, le rendement reste insuffisant pour atteindre l'autosuffisance d'une part à cause d'une population toujours en croissance et d'autre part en raison des problèmes climatiques, tel que la pluviométrie variable et faible, qui se traduisent par des contraintes hydriques, salines et thermiques. On peut aussi rajouter les stressés biotiques tel que les maladies et les parasites comme des facteurs agro-alimentaires qui jouent un rôle dans la limitation de la céréaliculture algérienne (Benabdelkader et Nouar, 2018).

1.2. Classification botanique du blé

Le blé est une plante monocotylédone de l'ordre des poales, de la famille des poaceae appartenant au genre *Triticum* (Feillet, 2000). C'est une céréale dont le fruit sec et indéhiscence, est appelé caryopse. Les deux espèces les plus cultivées et les plus importantes sont le blé tendre (*Triticum aestivum*) et le blé dur (*Triticum durum* Desf.) (Tableau.1.), mais il existe de nombreuses autres espèces qui se différencient par leur degré de ploïdie (diploïde, tétraploïde et hexaploïde) ainsi que par leur nombre de chromosomes (14, 28 et 42 respectivement) (Benderadji, 2013).

Le blé dur est conventionnellement associé à l'industrie des pâtes alimentaires et de la semoule. Tandis que le blé tendre est couramment utilisé pour la fabrication du pain (Benseddik et Benabdelli, 2000).

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

Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Monocotylédone
Ordre	Poales
Famille	Poaceae
Sous famille	Festucoideae
Genre	<i>Triticum</i>
Espèce	<i>Triticum durum</i> Desf.

1.3. Origine génétique

La plupart des recherches archéologiques ont confirmé que les origines du blé se situent dans le croissant fertile (Boulal et *al.*, 2007) plus précisément au sud de l'Anatolie et au nord de la Syrie (Figure 1). La culture du blé a été diffusée par la suite vers l'Afrique, l'Asie et l'Europe à partir de cette région (Amrouche et Mesbah, 2017).

La filiation génétique des blés est complexe et incomplètement élucidée. L'origine génétique du blé provient du croisement entre *Triticum monococcum* (porteur du génome A) et d'une graminée sauvage nommée *Aegilops speltoides* (porteuse du génome B). Un dédoublement chromosomique a permis l'apparition d'un blé dur tétraploïde possédant un génome AABB avec un nombre total de chromosomes de $2n = 28$ (Levy et Feldman, 2002 ; Huang et *al.*, 2002).

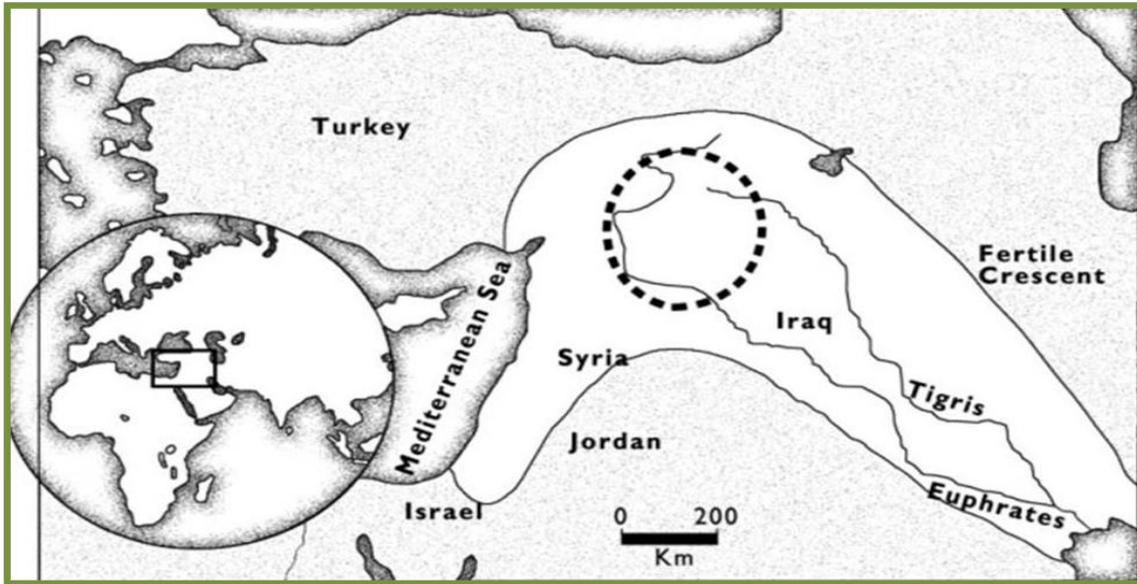


Figure 1 : Le croissant fertile (Abbo et al., 2010).

Le blé tendre est une espèce hexaploïde possédant un génome de type AABBDD avec un nombre total de chromosomes de $2n = 42$. Il provient d'une hybridation suivie par un doublement chromosomique entre *Triticum turgidum* (AA BB) et *Aegilops tauschii* (DD) (Figure 2) (Levy et Feldman, 2002 ; Huang et al., 2002).

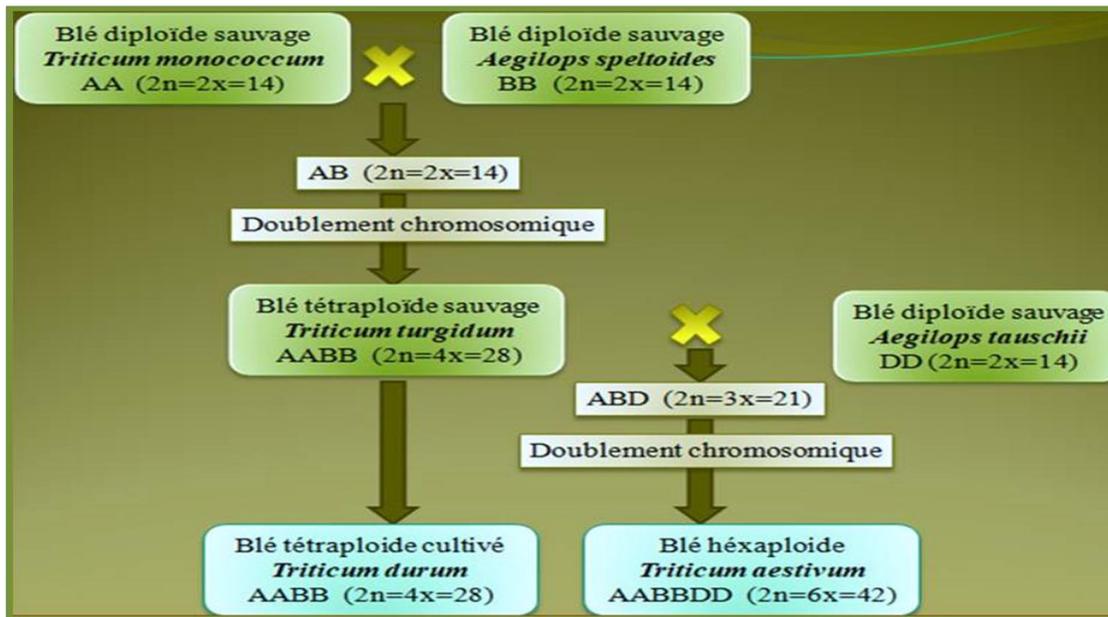


Figure 2 : Origine génétique du blé (Debiton, 2010).

1.4. Importance économique et nutritionnelle

Le blé occupe une place primordiale parmi les céréales cultivées et consommées dans le monde avec une production annuelle d'environ 757 millions de tonnes (FAO, 2019). Les habitants des pays arabes semblent être les plus gros consommateurs à l'échelle mondiale. Près de 700 grammes par personne et par jour au Maroc, environ 600 grammes pour : la Tunisie, l'Algérie et l'Égypte, contre 400 grammes en Inde ou encore 320 grammes en France (Abis, 2012).

En Algérie, la céréaliculture constitue l'une des principales activités, notamment dans les zones arides et semi-arides (Ducellier, 1931). On estime qu'environ 3.5 millions d'ha des superficies agricoles est consacré à la culture des céréales, cela a d'ailleurs été confirmé par les statistiques de l'année 2017 de l'ONFAA (Observatoire National des Filières Agricole et Agronomie), dont 40% est occupée par le blé dur (Benabdelkader et Nouar, 2018).

La majorité des utilisations du blé concerne en premier lieux l'alimentation humaine grâce à sa richesse en protéines et à la présence du gluten qui donne aux pâtes alimentaires une meilleure tenue à la cuisson. D'ailleurs, la production de pâtes alimentaires, de pains levés et non levés, de couscous ainsi que d'autres aliments traditionnels est couramment associée à l'utilisation du blé dur (Graziano et *al.*, 2019). Mais aussi la paille qui est utilisée comme aliment pour les animaux (Hébrard, 1996 ; Doré et Varoquaux, 2006 ; Debiton, 2010).

Depuis quelques années on a également recours à cette céréale dans le secteur industriel, pour la fabrication de biocarburant ou encore de bioplastiques à base de gluten ou d'amidon. Les principaux débouchés sont les sacs plastiques, les plastiques agricoles, les emballages et certains produits d'hygiène. Dans l'industrie pharmaceutique, il pourrait être utilisé en tant que dragéifiant, liant ou encore principe actif tel que le sorbitol. Dans de moindres proportions, l'amidon transformé peut être employé dans la fabrication de papier, de carton, mais aussi de détergents (Debiton, 2010).

L'importance du rôle économique et nutritionnel des céréales fait que chaque pays dans le monde se doit de se prémunir et d'assurer un minimum de sécurité alimentaire. Pour cela, les gouvernements mettent en place un ensemble de politiques, de plans, de mesures et de

précautions pour veiller au bon maintien et au développement de ce secteur agricole (Bourihane et Mekkaoui, 2013).

2. Les stress hydrique et salin chez les plantes

2.1 Notion de stress

Selon Levitt (1980), le terme stress désigne l'effet néfaste d'un facteur de l'environnement sur un organisme vivant. D'après Hopkins (2003), il s'agit de toute force ou condition hostile qui tend à empêcher le fonctionnement normal de la plante (croissance, développement et productivité). Ce terme regroupe à la fois les stress biotiques (causés par d'autres organismes vivants) et les stress abiotiques (se présentant à chaque fois qu'il y a un excès ou un déficit dans l'environnement physique ou chimique de la plante).

2.2. Stress abiotique

Le stress abiotique est lié à l'action néfaste du non-vivant sur le vivant, en particulier l'action exercée par les facteurs environnementaux ; susceptibles de déclencher des modifications dommageables, provoquant ainsi chez une espèce végétale une augmentation du taux de mortalité de la population (Amrouche et Mesbah, 2017). En revanche, la réponse du végétal dépend, entre autres : des paramètres environnementaux (tels que le type de la contrainte : sécheresse, salinité température extrême) et génétiques (espèce et/ou génotype) (Hopkins, 2003).

2.3. Stress hydrique

Le stress hydrique est un problème sérieux dans beaucoup d'environnements arides et semi-arides, où les précipitations changent d'année en année et où les plantes sont soumises à des périodes plus ou moins longues de déficit hydrique (Boyer, 1982).

Lamaze et *al.*, (1994) définissent le déficit hydrique comme étant une baisse de la disponibilité de l'eau dans le milieu d'installation d'une culture donnée, se traduisant par une réduction de la croissance de la plante et/ou de sa reproduction par rapport au potentiel du génotype. L'origine de ce déficit peut être : une salinité excessive du sol, une sécheresse qui se manifeste quand la quantité d'eau transpirée est supérieure à la quantité d'eau absorbée ou du gel

qui par cristallisation des molécules d'eau diminue sa disponibilité ce qui réduit significativement les productions agricoles (Chaumeil, 2006 ; Bousba, 2012).

Toutefois, le stress hydrique est le plus souvent provoqué par la sécheresse. Le manque d'eau peut se manifester aussi bien dans le sol que dans l'atmosphère (Veselovsky, 1985). Généralement, la sécheresse du sol est lente (Larcher, 1995), mais la diminution de l'humidité de l'air peut parfois être rapide (Yokota *et al.*, 2006). D'un point de vue physique, le stress hydrique résulte d'un abaissement du potentiel hydrique dans l'air et/ou dans le sol en dessous d'une certaine valeur, dépendant du génotype et des caractéristiques du milieu (type de sol, température, vent) (Lamaze *et al.*, 1994).

2.3.1. Influence du stress hydrique sur la germination

L'effet du stress hydrique va dépendre de son intensité, de sa durée, du stade de développement de la plante ainsi que du génotype et de son interaction avec l'environnement (Yokota *et al.*, 2006 ; Radhouabe, 2014). Ce phénomène est l'un des facteurs environnementaux qui affecte le plus la germination des espèces cultivées et réduit leur survie au cours des stades précoces de développement. En absence d'humidité suffisante, la graine même si elle est correctement placée dans le sol, n'évolue pas, retardant ainsi la levée. En cas de persistance de la sécheresse, la situation peut se traduire par une absence de germination (Feliachi *et al.*, 2001). Au cours de cette phase, c'est le métabolisme des carbohydrates qui se trouve fortement affecté (Ingram *et al.*, 1996), à travers la perturbation du fonctionnement enzymatique impliqué dans ce processus. De nombreux gènes contrôlant le métabolisme des sucres simples sont régulés par les variations de l'hydratation cellulaire. L'hydrolyse de l'amidon et la libération des sucres réducteurs énergétiques constituent une étape incontournable dans le déroulement de la germination. De plus, la disponibilité des carbohydrates pendant cette phase assure un rôle de protection contre le déficit hydrique (Beck et Ziegler, 1989).

2.3.2. Influence du stress hydrique sur la morphologie de la plante

Le stress hydrique cause des modifications au niveau de la morphologie des végétaux en limitant sérieusement la croissance de la plante (Moulineau, 1993). Un déficit hydrique précoce

affecte en parallèle la croissance des racines et des parties aériennes, le développement des feuilles et des organes reproducteurs (Debaeke et *al.*, 1996) ; ce qui se traduit par une réduction de la biomasse finale (Villegas et *al.*, 2001).

Une diminution importante de la longueur et du nombre de racines, pourrait être due à un arrêt de la division et de l'élongation cellulaire au niveau de la partie racinaire (Bendarradji et *al.*, 2016). Une autre conséquence importante de la sensibilité à l'élongation des cellules lors d'un stress hydrique est la réduction marquée de la surface foliaire. Cette dernière diminuera la croissance de la plante surtout durant les premiers stades de développement.

L'influence du déficit hydrique est souvent rapportée en terme de hauteur des plantes, du nombre de talles, de l'indice de surface foliaire, de la matière sèche des parties aériennes et racinaires ainsi que du rendement en grains (Brahimi, 2017).

2.3.3. Influence du stress hydrique sur la physiologie de la plante

Parmi les modifications physiologiques liées au stress hydrique, on observe un changement dans la régulation stomatique qui influe sur la photosynthèse et la respiration. En effet, un tel stress provoque la fermeture des stomates, ralentissant ainsi la photosynthèse en même temps que la respiration (Maury et *al.*, 2011). De plus l'activité physiologique de la feuille est fortement affectée et est liée à la diminution du potentiel hydrique foliaire. Cette réduction est supposée dépendre d'une fermeture des stomates, avec pour conséquence une diminution de la conductance à la diffusion du CO₂ et d'une limitation biochimique du chloroplaste pour la fixation du CO₂ (Brahimi, 2017).

Selon Benkaddour (2014) cette même contrainte peut conduire à un stress oxydatif par production des espèces réactives d'oxygènes (les ROS) particulièrement le radical superoxyde et le peroxyde d'hydrogène.

Les dommages provoqués par un stress hydrique vont aussi avoir des conséquences sérieuses sur le plan structurel et sur le plan métabolique en affectant l'intégrité des membranes et des protéines, ce qui entraîne des dysfonctionnements métaboliques. Les stress qui affectent la bicouche lipidique pourraient provoquer une perte de sélectivité des biomembranes. Ces dernières ont également tendance à devenir très poreuses lorsqu'elles sont desséchées (Hopkins, 2003).

2.4. Stress salin

Le stress salin est l'une des contraintes abiotiques les plus importantes et les plus limitantes en terme de productivité agricole à l'échelle planétaire, en particulier dans les climats aride et semi-aride (Djerah et Oudjehih, 2015). Il se définit comme une concentration excessive en sel ; ce terme s'applique surtout à un excès des ions, en particulier Na^+ et Cl^- (Hopkins, 2003).

L'excès d'ions salins dans la solution du sol génère à la fois une pression osmotique élevée et une accumulation d'ions devenant toxiques dans les feuilles notamment celle du Na^+ . Ceci a comme conséquence une réduction de la croissance et de la production des cultures due à une perturbation de plusieurs processus morphologiques, physiologiques, biochimiques et moléculaires (Kpinkoun et *al.*, 2019).

Les effets de la salinité sur la croissance des plantes varient en fonction du type de salinité, de la concentration du sel, de l'espèce, de la variété, de l'organe de la plante, ainsi que de son stade végétatif (Levigneron et *al.*, 1995). Certaines espèces telles que 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). Mais cela ne s'avère pas être le cas pour toutes les espèces végétales.

2.4.1 Influence du stress salin sur la germination

La germination et les premiers stades de croissance sont cruciaux pour l'établissement des espèces se développant dans des environnements salins. Ce stade germinatif est souvent limité par la salinité du sol et se montre plus sensible par rapport aux autres stades de développements (Ouhaddach, 2016).

Une salinité élevée entraîne une inhibition de la germination des semences par osmose ou par toxicité spécifique (Ouhaddach, 2016). Les effets osmotiques se traduisent par l'incapacité des graines à absorber des quantités suffisantes en eau pour les ramener à leur seuil critique d'hydratation. Ce qui se trouve être nécessaire au déclenchement du processus de germination (Maas et Poss, 1989)

Les effets toxiques sont quant à eux liés à une forte accumulation des ions (notamment le Na^+) provoquant une perturbation des enzymes impliquées dans la physiologie des graines en

germination. Ceci va empêcher la levée de dormance des embryons et conduire à une diminution de la capacité germinative (Rejili *et al.*, 2006).

Rahmoune *et al.*, (2001) ont montré que le sel a un effet dépressif sur le taux de germination des grains. Cependant, cet effet varie en fonction de l'intensité du stress et de la variété en question. Les variétés tunisiennes ont montré une sensibilité extrême au sel ; en revanche, les variétés marocaines se sont montrées les plus tolérantes.

2.4.2. Influence du stress salin sur la morphologie de la plante

Des seuils élevés de salinité vont affecter toutes les parties de la plante, mais il semblerait que cela ait une incidence plus marquée sur la croissance foliaire comparativement à la croissance racinaire. Et ceux chez plusieurs espèces de plantes cultivées telles que l'orge et le blé (Xu, 1990 ; Gouia *et al.*, 1994).

Munns et Termaat (1986), signalent que le stress salin a pour effet immédiat la limitation de la croissance par le biais de messages hormonaux partant des racines en direction des feuilles. L'hormone impliquée étant probablement l'acide abscissique (Kefu *et al.*, 1991). D'une manière générale ; cela retarde la croissance des pousses et l'émergence des nouvelles feuilles, réduit la longueur des feuilles et des coléoptiles et diminue la hauteur et le nombre de talles (Maas et Poss 1989 ; Brahimi, 2017).

La salinité diminue la croissance des plantes en provoquant un déséquilibre hydrique des tissus, ce phénomène est associé à une baisse de turgescence, suite à une diminution du gradient de potentiel hydrique entre la plante et le milieu. (Ouerghi *et al.*, 2000). L'entrée du sel dans la plante provoque aussi un déséquilibre ionique qui se traduit (suivant l'espèce) par des carences ou des excès en certains éléments. Ce dernier provoque une altération de la nutrition minérale (Levigneron *et al.*, 1995). Ces perturbations sont une cause possible des réductions de la croissance des parties racinaires et foliaires de la plante (Haouala *et al.*, 2007).

2.4.3 Influence du stress salin sur la physiologie de la plante

L'accumulation de chlorure et de sodium est l'une des principales menaces physiologiques qui pèse sur les écosystèmes. Les sels de la solution du sol peuvent se concentrer à hauteur de 2 à 5 fois leur valeur initiale. Ceci cause une augmentation de la pression osmotique de la solution du

sol et rend encore plus difficile pour les racines l'extraction de l'eau. C'est ce qu'on appelle une sécheresse physiologique (Maillard, 2001). Lorsque l'ajustement osmotique n'est pas suffisant, l'eau a tendance à quitter les cellules, ce qui provoque un déficit hydrique et une perte de la turgescence (Redondo-Gomez et *al.*, 2006).

Lorsque la concentration en sel excède le niveau de tolérance de la plante, l'activité physiologique des feuilles est affectée en réduisant la photosynthèse, qui est liée à la diminution du potentiel hydrique foliaire responsable de la fermeture des stomates. La diffusion du CO₂ à l'intérieur des stomates devient alors limitée et sa fixation au niveau des chloroplastes diminue ; les exposant ainsi à une énergie d'excitation excessive perturbant le transport des électrons. Par conséquent la glycolyse, le cycle de Krebs, l'assimilation de l'azote et de nombreuses voies métaboliques sont perturbées (Price et Hendry, 1991 ; Allen, 1995 ; Alem et *al.*, 2002 ; Jajoo, 2013).

Dans des conditions salines, la membrane plasmique et le principal site de l'interaction du sel avec la plante ce qui induit à une perturbation de la composition lipidique et protéique au niveau de celle-ci affectant ainsi sa stabilité (Alem et *al.*, 2005).

La salinité va également entraîner la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Jajoo, 2013). L'excès de ROS déclenche des réactions phytotoxiques telles que la peroxydation des lipides, la dégradation des protéines et la mutation de l'ADN (Sreenivasulu et *al.*, 2000).

3. Mécanismes d'adaptation aux stress salin et hydrique

La survie des plantes soumises à un stress environnemental est un vaste domaine de recherche (Sami, 2016). Plusieurs études ont montré que, lors d'un stress abiotique, les plantes adoptent des stratégies d'adaptation qui font intervenir une large combinaison de facteurs morphologiques, physiologiques, biochimiques et moléculaires (Monneveux et Nemmar, 1986).

Plusieurs voies de signalisation sont activées en réponse aux stress environnementaux. La réponse au stress (salin ou hydrique) est initiée quand une plante perçoit un déficit hydrique au niveau cellulaire. La reconnaissance du signal va conduire à l'activation de voies de transduction du signal qui seront à l'origine de modification de l'expression des gènes du métabolisme et de l'ajustement de la quantité d'eau au niveau cellulaire (Ben Yahmed, 2013).

3.1. Régulation stomatique et capacité photosynthétique

La réduction de la perte en eau par la fermeture stomatique est un moyen d'adaptation des plantes au stress abiotique (Djekoun et Planchon, 1992). En condition stressante, les racines synthétisent l'ABA qui est véhiculé jusqu'aux feuilles où il déclenche alors la fermeture de stomates (Benkhellef, 2016). Cette dernière, va provoquer une augmentation de la température foliaire et une réduction de l'assimilation du CO₂ d'où une réduction de l'activité photosynthétique (Anjum et *al.*, 2011)

L'augmentation du nombre de stomates par unité de surface pourrait être un des facteurs de résistance au stress abiotique chez les céréales (Slama et *al.*, 2005). L'accroissement de la densité stomatique peut augmenter l'assimilation nette du CO₂ et diminuer la perte en eau (Djekoun et Ykhlef, 1996). Erchidi et *al.*, (2000) ont constaté que les variétés ayant une conductance et une densité stomatique élevée sont plus résistantes au stress abiotique en donnant un rendement en grains plus satisfaisant.

3.2. Maintien de la balance hydrique et accumulation des osmolytes

On retrouve des stratégies d'adaptation communes au stress salin et au stress hydrique. D'une part, il existe des stratégies qui font appel à des modifications plutôt d'ordre physique : réduction de l'hydratation cellulaire, réduction du volume cellulaire et augmentation de la conductivité hydraulique. D'autre part, il existe des stratégies plutôt d'ordre chimique et en particulier l'ajustement osmotique (Yeo, 1983).

On parle d'ajustement osmotique quand la concentration en solutés à l'intérieur de la cellule augmente pour maintenir une pression osmotique cellulaire élevée. La cellule accumule alors activement des molécules comme réponse à la chute du potentiel osmotique ; se traduisant par une plus grande capacité d'attraction et de rétention des molécules d'eau (Yeo, 1983 ; Chaumeil, 2006). Il s'agit de molécules hautement solubles, de faible poids moléculaire, non toxique, sans charge et tendant à être neutres au pH physiologique (Farooq et *al.*, 2009). Ces osmolytes s'accumulent majoritairement dans le cytoplasme et peuvent être aussi bien d'origine organique tels que les sucres, les acides organiques et les acides aminés (comme la proline et la glycine bêtaïne), que d'origine inorganique comme les ions, en particulier les ions de potassium.

La plupart de ces composés s'accumulant dans le cytoplasme sont appelés des solutés compatibles, car ils n'interfèrent pas dans les activités enzymatiques (Cuin et Shabala, 2007).

3.2.1. Les sucres solubles

L'augmentation de la concentration des sucres (glucose, saccharose et fructose) améliorent la tolérance à plusieurs stress abiotiques, tels que la sécheresse et la salinité (Delatorre *et al.*, 2019). Généralement, on pense qu'une hausse de la teneur en sucres solubles peut avoir comme origine l'hydrolyse des réserves (en particulier l'amidon) mais aussi une modification de certaines voies métaboliques de synthèse (Lepoivre, 2003).

Ces osmolytes seraient impliquée dans les mécanismes d'ajustement osmotique (Dubos, 2001). Ils permettent également la stabilité des membranes, la protection des protéines, la protection des processus de synthèse des enzymes et la production d'énergie (Darbyshire, 1974 ; Chaib *et al.*, 2015). Ce phénomène d'osmorégulation permet le maintien de nombreuses fonctions physiologique comme la photosynthèse ou encore la croissance et peut intervenir à tous les stades de développement (Hassani *et al.*, 2008 ; Ahmad, 2019).

3.2.2. La proline

La proline ou acide pyrrolidine-2-carboxylique est l'un des vingt principaux acides aminés qui entrent dans la constitution des protéines (El Jaafari, 1993). Il s'agit aussi, très certainement, de l'un des osmolytes le plus répandu (Bensalem *et al.*, 2005). La synthèse de cet acide aminé à partir du Glutamate est catalysée par une enzyme : Δ^1 -Pyrroline-5-carboxylate synthétase (P5C synthétase) (Neffar, 2013).

De nombreux rapports ont montré le rôle bénéfique de la proline en réponse à plusieurs stress environnementaux, en particulier les stress dus au sel et à l'eau (Freitas *et al.*, 2019). Elle peut agir comme une molécule de signalisation / régulatrice capable d'activer plusieurs réponses faisant partie du processus d'adaptation (Maggio *et al.*, 2002). En plus du rôle osmotique attribuer à celle-ci, elle intervient également dans : la détoxification des formes réactives d'oxygènes, la stabilisation des protéines, la protection de l'intégrité membranaire, la protection des systèmes enzymatiques et la régulation de l'acidité cytosolique (Hassani *et al.*, 2008; Chaib *et al.*, 2015 ; Aswani *et al.*, 2019).

La proline et les sucres solubles peuvent être considérés comme des marqueurs biochimiques du degré de tolérance aux stress abiotiques et par conséquent ils peuvent être utilisés pour la sélection précoce de variétés tolérantes (Belfakih et *al.*, 2013).

3.3. Les protéines impliquées dans la réponse aux stress

Les protéines de stress jouent un rôle majeur 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 (Campalans et *al.*, 1999). Parmi ces protéines on cite: les aquaporines, les protéines HSP (Heat-shock proteins), les protéines LEA (Late embryogenesis abundant proteins) et autres chaperonnes qui peuvent jouer un rôle dans la régulation de la circulation de l'eau et dans la protection de la cellule végétale (Wang et *al.*, 2003).

3.3.1. Les aquaporines

Les plantes doivent 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 de l'eau, cette dernière est régulée par un groupe spécifique de protéines les aquaporines (Srivastava et *al.*, 2016)

En se basant sur leur homologie de séquence, les aquaporines végétales peuvent être divisées en quatre grandes classes. Les deux plus importantes sont : les PIPs pour Plasma 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 (Hamla, 2016).

L'étude de 5 TIP chez le tournesol a montré que lors d'une déshydratation, la quantité de transcrits dans les racines augmentait pour SunTIP7, diminuait pour SunTIP18, augmentait transitoirement pour SunTIP20 et ne fluctuait pas pour SunRb7 et Sun γ TIP (Sarda et *al.*, 1999). La régulation de l'expression des aquaporines va avoir une influence sur les propriétés de perméabilité à l'eau des membranes. Leur fonction a été étudiée plus en avant chez le tabac en se servant d'une technique d'ARNm antisens (Chaumeil, 2006). Chez *Arabidopsis thaliana*, il existerait au moins 30 aquaporines. Certaines, telles que la protéine RD28 (Yamaguchi-Shinozaki

et Shinozaki, 1992 ; Virilouvet, 2011), sont induites par différents types de déficit hydrique, alors que d'autres sont réprimées par le déficit hydrique. Cette régulation permet de jouer sur les flux d'eau et du même coup l'ajustement osmotique (Virilouvet, 2011).

3.3.2. Les protéines LEA

Les LEA (Late Embryogenesis Abundant proteins) sont des protéines hydrophiles qui s'accumulent très fortement dans les tissus tolérants à la dessiccation, comme les graines, ou en réponse à la déshydratation, aux basses températures, à la salinité et à l'application de l'ABA (Nguyen *et al.*, 2019 ; Chaumeil, 2006).

Selon la similarité des séquences d'acides aminés et les différences dans les domaines conservés, elles peuvent être regroupées en huit (8) groupes. Les plus étudiés sont : les LEA du groupe 1 (D19) qui sont caractérisés par un motif commun de 20 acides aminés. Les LEA du groupe 2 (D11) aussi appelé déhydrines, partagent 3 domaines hautement conservés : le segment-K qui est un motif de 15 acides aminés riches en lysine, une chaîne de sérines contiguës ou segment-S et le segment-Y qui est un motif DEYGNP. Cette protéine adopterait également une conformation en hélice α . Les LEA du groupe 3 (D7) partagent un motif de 11 acides aminés permettant une conformation en hélice α . A ces trois groupes s'ajoutent aussi : le groupe 4 (D113), le groupe 5 (D29) et le groupe 6 (D34) ayant également des propriétés communes (Chaumeil, 2006).

Peu d'informations sont à ce jour disponibles sur la fonction des protéines LEA. Plusieurs hypothèses ont été avancées (Tunnacliffe et Wise, 2007 ; Virilouvet, 2011) à savoir :

- En raison de l'absence de structure secondaire et de leur nature hydrophile, ces protéines assureraient une fonction protectrice car elles diminueraient l'agrégation de polypeptides partiellement dénaturés produits en condition de stress.
- Etant hydrophiles, elles sont également capables de fixer des molécules d'eau et pourraient donc jouer le rôle de tampon d'hydratation ce qui permettrait de ralentir la perte en eau.
- Les protéines LEA pourraient aussi assurer une stabilisation stérique puisque qu'elles peuvent être localisées à différents endroits de la cellule et peuvent même être associées aux membranes. Elles

agiraient alors comme un tampon mécanique, évitant une diminution trop importante de la taille des cellules par une stabilisation membranaire.

-Pour finir, ces protéines pourraient également avoir un rôle de séquestration des ions étant riches en acides aminés chargés. Elles éviteraient ainsi des dommages cellulaires induits par l'augmentation de la concentration ionique en cas de stress hydrique (Virilouvet, 2011).

3.3.3. Les protéines HSP

Pour la survie des cellules, en particulier dans des conditions difficiles, l'un des mécanismes qui s'est le plus maintenu lors de l'évolution est celui de l'expression de protéines connues sous le nom de protéines de choc thermique (HSP). Elles sont divisées en cinq familles en fonction de leur poids moléculaire: les Hsp60, les Hsp70, les Hsp90, les Hsp100 et les sHsp (small HSP) dont la taille varie de 12 à 40 kDa (Chaumeil, 2006 ; Divya et *al.*, 2019). Par la suite, les protéines HSP ont été montrées comme pouvant s'accumuler lors d'autres stress comme le stress hydrique et le stress salin (Wang et *al.*, 2004).

Leur rôle crucial s'illustre dans la protection, le maintien et la régulation de la conformation des protéines, de leur assemblage, de leur localisation et de leur dégradation dans de nombreux processus cellulaires. Elles sont également impliquées dans la stabilisation des protéines et des membranes. Elles permettent ainsi une protection des plantes lors de stress par un rétablissement de la conformation initiale des protéines et de l'homéostasie cellulaire (Wang et *al.*, 2004 ; Janowska et *al.*, 2019). Justement on associe très couramment ces protéines et en particulier les petites protéines HSP (sHSP) à la tolérance à la dessiccation chez les plantes. Ainsi, dans les graines d'*Arabidopsis thaliana*, les sHSP s'accumulent pendant les phases tardives de la maturation et sont très abondantes dans la graine sèche (Boucher, 2009).

4. Mécanismes d'adaptation au stress ionique

L'homéostasie ionique cellulaire est un phénomène essentiel et vital pour tous les végétaux. Afin de pallier la toxicité cellulaire due à la présence de sels dans le cytoplasme des cellules, les plantes (se développant dans un environnement hypersalin) vont avoir recours à l'ajustement de l'osmolarité intracellulaire. Et ceux dans le but de limiter la perte de turgescence causée par l'abaissement du potentiel hydrique (Ψ_H) de la solution du sol. Pour contrebalancer les potentiels

hydriques bas du cytosol, les ions Na^+ et Cl^- présents dans la rhizosphère vont s'accumuler dans la vacuole, limitant ainsi leur toxicité cytoplasmique (Bennja, 2014). Parmi les autres stratégies utilisées (autre que la compartimentation des ions toxiques au sein de la vacuole) on retrouve: l'exclusion hors de la cellule et la sélectivité ionique (Boumaaza, 2011).

4.1. L'exclusion des sels

L'une des stratégies permettant aux plantes de survivre en condition de stress salin consiste à exclure le sodium du cytoplasme vers l'extérieur de la cellule. Dans ce cas, les plantes limitent l'entrée des éléments salins et les rejettent dans le compartiment apoplasmique (Hanana et *al.*, 2011). Chez le blé, l'orge et le maïs, la tolérance à la salinité est associée à l'exclusion de l'ion Na^+ (Benderradji, 2013).

Parmi les voies métaboliques activées lors d'un stress salin, la voie SOS (Salt Overly Sensitive). Les ions Na^+ des cellules sont exclus par des canaux ioniques : antiport Na^+/H^+ , ou bien par la limitation de l'entrée des ions Na^+ (Khane et Balz, 2018). L'excès de Na^+ et l'osmolarité élevée sont détectés séparément par des capteurs situés au niveau de la membrane plasmique, ce qui induit une augmentation du Ca^{2+} cytosolique. Le processus impliquant les SOS débute après la fixation du calcium sur la protéine SOS3 qui contient 3 sites de fixation du calcium (Ishitani et *al.*, 2000). Les modifications conformationnelles provoquées par la liaison du Ca^{2+} à cette protéine vont permettre sa fixation à la protéine SOS2. (Liu et *al.*, 2000). Le complexe protéique SOS3-SOS2 activé phosphoryle une autre protéine SOS1, un antiport Na^+/H^+ de la membrane plasmique, ce qui entraîne l'efflux d'ions Na^+ (Figure 3) (Khane et Balz, 2018).

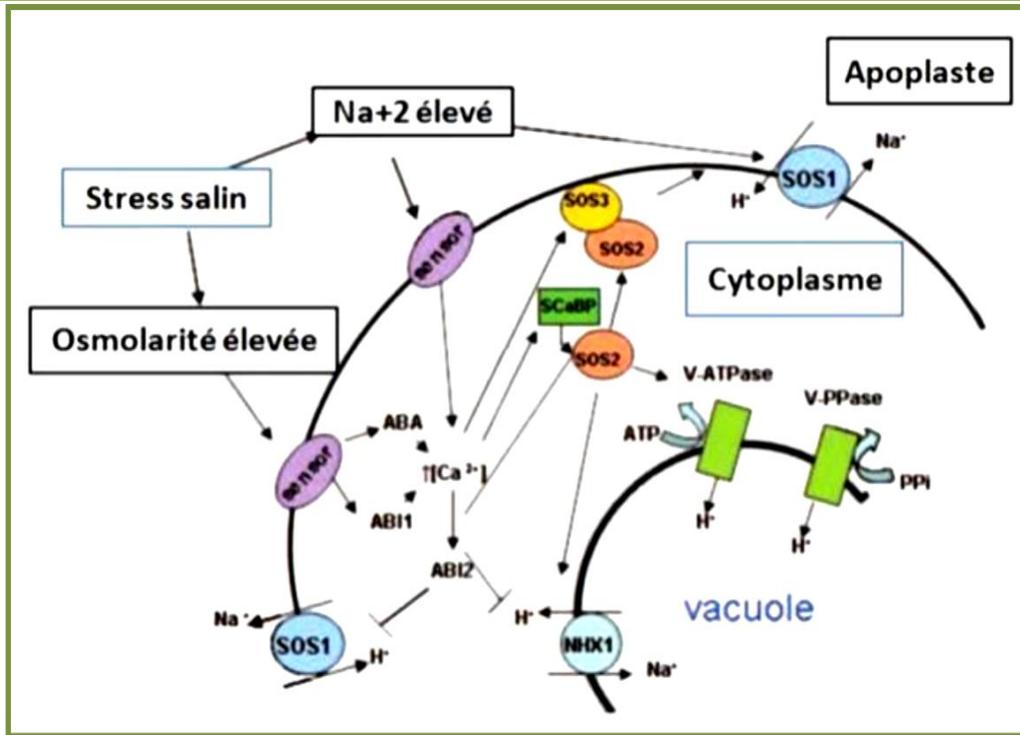


Figure 3 : Voies de signalisation responsables de l'exclusion du Na⁺ chez *Arabidopsis* sous stress salin (Silva et Gerós, 2009).

4.2. La compartimentation vacuolaire ou l'inclusion

La compartimentation vacuolaire ou autrement dit l'inclusion consiste à expulser les ions Na⁺ en excès du cytoplasme vers la vacuole afin d'éviter leur effet toxique et leur action inhibitrice à l'encontre des processus enzymatiques (Hanana et al., 2011). D'autre part, l'augmentation concomitante de la concentration de sodium dans la vacuole va engendrer une forte pression osmotique qui va favoriser l'absorption d'eau et donc améliorer la turgescence des cellules (Hanana et al., 2001).

Cette stratégie peut également s'opérer à l'échelle de la plante entière, au niveau des organes les plus vieux ou les moins sensibles (Munns, 1993).

A l'intérieur des vacuoles le sel est stocké 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).

Le stress salin active aussi la synthèse de l'acide abscissique (ABA), qui peut réguler positivement la transcription de l'antiport AtNHX1 (Figure 4) (Zhu, 2003). Des différences dans les niveaux d'expression des antiports AtNHX1 ou AtAVP1 peuvent affecter l'aptitude à séquestrer le Na^+ au niveau des vacuoles foliaires. D'ailleurs la tolérance à la salinité est plus marquée chez les espèces surexprimant les gènes AtNHX1 et AtAVP1 (Arbaoui, 2016).

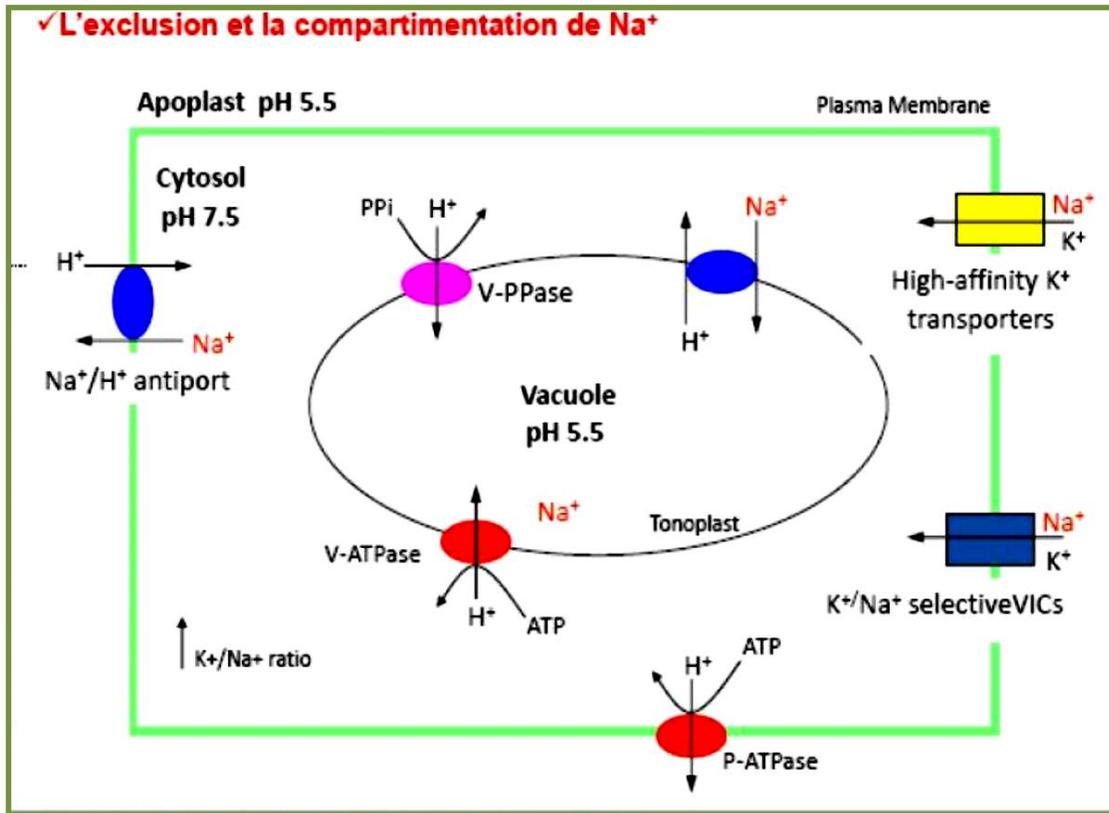


Figure 4 : L'exclusion et la compartimentation vacuolaire du Na^+ (Zhu, 2003).

4.3. La sélectivité

La sélectivité ionique représente la capacité de la plante à réguler l'accumulation du Na^+ au profit du K^+ . Il s'agit en fait d'un phénomène de discrimination entre les deux ions (Gorham, 1993). En effet, des niveaux élevés de l'ion K^+ dans la plante sont associés à la tolérance au stress salin, chez plusieurs espèces en évitant tous déséquilibres nutritionnels pouvant être induits par un excès de sodium (Bhandal et Malik, 1988).

Le Ca^{2+} semble être nécessaire pour le maintien de la sélectivité ionique (Cramer, 2002). Le Ca^{2+} réduit l'absorption du Na^+ dans le milieu et par voie de conséquence favorise la sélectivité K^+/Na^+ au niveau de la membrane plasmique (Chadli, 2007).

5. Approches biotechnologiques pour l'amélioration de la tolérance au stress

Les avancées en biotechnologies végétales ont permis de comprendre les mécanismes intervenants dans la tolérance aux stress. L'identification des gènes induits en condition de stress, constitue une approche très prometteuse en amélioration des plantes (Benderradji, 2013).

5.1. La transgénèse

L'innovation dans les cultures transgéniques (ou organismes génétiquement modifiés, OGM) s'est déployée dans des contextes très singuliers, qui diffèrent des autres domaines de la biotechnologie. La biotechnologie moderne dérive des progrès récents de la biologie moléculaire, qui permettent d'obtenir un ADN recombinant, en insérant un fragment d'ADN d'une espèce dans la séquence génétique d'une autre espèce (Pellegrini, 2012).

La principale application de la transgénèse est de loin la recherche fondamentale. Un gène isolé est détaché de son contexte ; son transfert dans un nouvel organisme permet d'en étudier le fonctionnement et le rôle. Elle est de ce fait de plus en plus mise en œuvre par les biologistes et contribue ainsi à révéler la cartographie, le séquençage complet de divers génomes et la fonction des gènes identifiés (Anger et Kintz, 2010). Les applications agronomiques de la transgénèse sont potentiellement considérables grâce aux propriétés qui sont conférées aux plantes transgéniques : résistance aux maladies, résistance aux herbicides, amélioration des qualités nutritives et du goût, adaptation aux sols salés ou alcalins, résistance au froid ou à la sécheresse, détoxification des sols par captation de métaux lourds, production de molécules pour l'industrie pharmaceutique et chimique (huiles, détergents, carburants, fibres, etc (Anger et Kintz, 2010).

Les premiers transgènes utilisés correspondaient à « des gènes d'action simple », c'est-à-dire des gènes responsables de la modification d'un seul métabolite connu pour conférer une tolérance accrue à la sécheresse (Virilouvet, 2011). De nos jours de nombreux travaux ont été publiés mettant en avant des plantes transgéniques surexprimant notamment des facteurs de transcription, parmi les nombreux exemples existant celui d'une protéine à homéodomaine « START » qui

conduit à deux modifications morphologiques importantes : un système racinaire plus développé et une réduction du nombre de stomates par unité de surface de feuilles. Les plantes transgéniques de tabac obtenues ont une meilleure efficacité d'utilisation de l'eau car elles transpirent moins tout en ayant une assimilation nette du gaz carbonique plus importante (Pelletier, 2013). Un autre exemple porte sur la surexpression chez le riz de la protéine SNAC, un facteur de transcription qui est induit par le stress hydrique dans les cellules de garde des stomates. Les plantes qui en résultent perdent plus lentement leur eau par transpiration car elles sont plus sensibles à l'hormone ABA qui provoque la fermeture des stomates. Cependant leur photosynthèse n'est pas affectée ce qui leur confère une capacité supérieure de production au champ en cas de stress sévère. De plus ces plantes se montrent résistantes à l'excès de sel (Guiderouni et Breilter, 2006).

5.2. Les marqueurs moléculaires

L'essor des techniques de marquage moléculaires au cours des dernières années ouvre une nouvelle ère pour l'amélioration de tolérance des végétaux en conditions stressantes et permet de renforcer la sélection classique, en rendant possible l'identification et l'étiquetage des gènes d'intérêts. Grâce à ces marqueurs, il devient, en effet possible, d'une part, de mieux lire le génotype à travers le phénotype, et d'autre part, de créer des génotypes cumulant des gènes favorables (Bartels et Sunkar, 2005). Ceci est d'autant plus intéressant que les marqueurs morphologiques car ils sont très nombreux, couvrent le génome entier, indépendants de la partie de la plante prélevée, du stade de développement et des fluctuations environnementales (Boumana, 2017).

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). Chez le maïs, il a été établi qu'il est possible d'introduire par sélection assistée par marqueurs plusieurs régions du génome impliquées dans le rendement en condition de stress hydrique. A titre d'exemple ceci a pu être amélioré par la réduction de l'asynchronie entre la maturité des organes mâles et femelles qui est un des principaux effets du stress hydrique pendant la phase reproductrice (Pelletier, 2008).

En restant toujours dans les céréales, on a pu observer chez le riz (*Oryza sativa*), un total de 16 marqueurs AFLP associés à la concentration ionique dans les parties aériennes (Khane et Balz, 2018).

Matériel et Méthodes

1. Matériel végétal

Cette étude a été réalisée sur deux variétés de blé dur (*Triticum durum Desf.*) : Beliouni et Waha. Elles ont été gracieusement fournies par l'Institut Technique des Grandes Cultures (ITGC) (station El Khroub de Constantine). Leurs principales caractéristiques sont les suivantes :

- ❖ La variété Waha (Figure 5) a été sélectionnée par l'ICARDA (International Center of Agriculture Research in the Dry Areas) en Syrie. Elle fut, par la suite, dénommée 'SHAM1' avec comme pédigrée : Waha = Plc'S'/Ruff//Gta'S'/3/Rolette CM17904-3M-1Y-1M-0Y. Cette variété introduite en Algérie depuis 1975 (des sélections ont été faites à la station d'El Khroub), est semi-précoce et semi-naine, à tallage fort, tolérante au froid, moyennement tolérante à la sécheresse et présentant une bonne stabilité du rendement (Boufenar-Zaghouane et Zaghouane, 2006).
- ❖ La variété Beliouni (Figure 5), très populaire, a été sélectionnée dès les années 1920 en Algérie à partir de la variété botanique de *Triticum durum Desf. Var. erythromelan Körn.* Elle constitue l'une des variétés les plus appréciées du point de vue de la rusticité (bonne adaptation et tolérance à la sécheresse) et des rendements stables (Boufenar-Zaghouane et Zaghouane, 2006).



Figure 5 : Graines des deux variétés de blé dur utilisées dans l'étude (Beliouni et Waha).

2. Mise en place des essais

Les expérimentations ont été conduites au laboratoire de Génétique Biochimie et de Biotechnologie Végétale (GBBV) (équipe IV : Physiologie Moléculaire et Biodiversité des Plantes) à Chaabat EL Rasses, Université Frères Mentouri Constantine1.

Notre étude fut scindée en deux essais : le premier essai consiste à analyser l'effet des contraintes hydriques et salines sur la germination, et le second consiste à analyser l'effet de ces deux contraintes sur la réponse des plantes au stade 3^{ème} feuille. Le stress salin a été appliqué en ayant recours à deux traitements de NaCl dont les concentrations sont : 100 et 200mM. Tandis que le polyéthylène glycol (PEG-6000) a été utilisé afin de simuler un stress hydrique avec deux concentrations 10 et 20%.

3. Essai 01 : Effet des stress salin et hydrique sur la germination

3.1. Conditions de germination

Les graines des variétés de blé dur ont été stérilisées à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium à 5% pendant 15 minutes puis rincées cinq fois à l'eau distillée.

Un premier lot de graines a été mis à germer à une température ambiante de 25°C sur du papier absorbant dans des boîtes de Pétri, à raison de 16 graines par boîte en réalisant trois répétitions par génotype (B et W) et par traitement de NaCl (0, 100 et 200 mM) et de PEG-6000 (0%, 10% et 20%) (Figure 6). 3 ml de chaque solution ont été ajoutés à chaque boîte de Pétri, chaque 48 h pour une durée de huit jours. Dans le cas du contrôle, ce fut de l'eau distillée (Hajlaoui et *al.*, 2007 ; Amouri et *al.*, 2015).



Figure 6 : Dispositif utilisé pour la germination.

3.2. Paramètres étudiés

3.2.1. Taux de germination final (G, %)

Ce paramètre est utilisé afin d'analyser la capacité germinative, il est exprimé par le rapport entre le nombre de graines germées sur le nombre total de graines incubées (Côme, 1970 ; Amouri et Fyad Lamech., 2012).

$$G (\%) = 100(NGG/NTG)$$

Où :

- ❖ G (%) représente le pourcentage de germination ;
- ❖ NGG représente le nombre de graines germées ;
- ❖ NTG représente le nombre total de graines incubées.

3.2.2. Indice de tolérance (IT)

Afin de déterminer la tolérance des génotypes, un indice (IT) a été déterminé, il est égal au rapport du taux de germination noté sous stress sur celui du témoin. Il a été considéré que les plantes tolérantes ont un indice de tolérance plus élevé que les plantes sensibles (Amouri et *al.*, 2015).

3.2.3 Cinétique de germination (CG, %)

Pour mieux appréhender la signification physiologique du comportement germinatif des variétés étudiées, le nombre de graines germées fut compté quotidiennement jusqu'au 7ème jour de l'expérience (Hajlaoui et *al.*, 2007).

Il s'agit de calculer la vitesse de germination sous les différentes concentrations d'osmotocums utilisés pour imposer le stress. Elle est exprimée par le nombre de graines germées à 24, 48, 72, 96, 120, 144 et 168 h après le début de l'expérience.

3.2.4 Germination moyenne journalière (MDG, %)

La moyenne journalière de germination a été calculée selon Osborne et *al.* (1993) en utilisant la formule suivante :

$$\text{MDG (\%)} = \text{Pourcentage de germination final} / \text{nombre de jours à la germination finale}$$

3.2.5. Réversibilité de l'action du stress

Ce paramètre a l'avantage d'indiquer l'origine de l'effet dépressif du stress, s'il est de nature osmotique et/ou toxique. Ainsi, les graines sont mises à germer en présence de différentes concentrations de NaCl et de PEG-6000 pendant 4 jours. Au quatrième jour, les graines non germées sont rincées trois fois pour éliminer l'agent de sélection (NaCl, PEG-6000) non absorbé puis transférées dans de nouvelles boîtes de pétri contenant de l'eau distillée pendant quatre jours supplémentaires (Alaoui et *al.*, 2013).

3.2.6. Nombre de racines (NBR)

Le nombre de racines émises a été compté. On considère la moyenne de racines pour chaque plantule (Mefti et *al.*, 2008).

3.2.7. Longueur racinaire (LR, cm)

La longueur des racines est déterminée comme étant la longueur de la racine la plus longue, les mesures ont été effectués à l'aide d'une réglette graduée et ce pour évaluer la croissance de la plante vis -à-vis du stress (Brahimi, 2017).

3.2.8. Longueur des épicotyles (LE, cm)

La longueur des épicotyles est mesurée, à partir de la couronne ou premier nœud jusqu'à la sortie de la première vraie feuille (Simmons et *al.*, 1995).

3.2.9. Analyse et traitement des données

Dans le but de mieux décrire les différentes variables précédemment mentionnées, la moyenne a été calculée ainsi que l'écart type, à l'aide du logiciel d'analyse statistique Xlstat 2010.

Afin de tester les différences entre les traitements, les durées, les génotypes et leur interaction, une analyse de variance a également été réalisée à l'aide du logiciel d'analyse statistique Xlstat 2010.

4. Essai 02 : Effet du stress salin et hydrique sur des caractères physiologiques et biochimiques

4.1. Germination

Un deuxième lot de graines a ensuite été mis à germer dans des boîtes de Pétri à l'obscurité à une température ambiante de 25 °C. Suite à l'émergence des racines, les graines germées ont quant à elles été repiquées dans des petits pots en plastique (Figure 7).



Figure 7 : Dispositif utilisé pour l'essai en pots.

4.2. Mise en culture et application des stress

Le deuxième essai a été conduit dans des pots en plastique en chambre de culture. Une fois germées, les graines sont repiquées dans de petits pots en plastique contenant du terreau à raison d'une graine par pot (Bouchemal, 2018). La croissance des plantes s'est faite en chambre de culture avec une température de $(25 \pm 5) ^\circ\text{C}$, une humidité relative de $(70 \pm 10) \%$ et une photopériode de 16 h de lumière par 8 h d'obscurité.

4.2.1. Application des stress

Après trois semaines de culture (21 jours), le stress salin a été induit par l'addition de différentes doses de chlorure de sodium à l'eau d'arrosage (un stress modéré de 100 mM et un stress sévère de 200 mM). Tandis que le stress hydrique a été induit par l'addition de différentes doses de polyéthylène glycol-6000 à l'eau d'arrosage (un stress modéré de 10% et un stress sévère de 20%) suivant la procédure de Cheikh M'hamed, (2008). Le stress fut imposé pour une durée de sept jours. Pour chaque plante témoin et chaque plante traitée, 3 répétitions biologiques sont réalisées.

Le polyéthylène glycol (PEG) ayant une masse molaire de 6000 a été choisi afin de mimer l'effet d'un stress hydrique, du fait qu'il constitue un agent relativement stable, inerte, non ionique mais bien soluble dans l'eau et non toxique, même à de fortes concentrations (Jaoudi et

al., 2010). De plus il agit comme un agent osmotique abaissant le potentiel de l'eau d'une manière relativement contrôlée, semblable à un séchage du sol (Oukarroum, 2007).

Le chlorure de sodium (NaCl) est un sel inorganique binaire du sodium de métal alcalin et du chlore halogéné. Il s'agit d'un osmoticum bien soluble dans l'eau et qui est souvent utilisé pour imposer une contrainte saline (Chikh M'hamed *et al.*, 2008 ; Farsiani et Ghobadi, 2009 ; Jaoudi *et al.*, 2010).

4.3. Paramètres physiologiques et biochimiques étudiés

Le comportement des deux variétés de blé dur étudiées vis-à-vis du stress salin (NaCl) et du stress hydrique (PEG-6000) a été investigué en se basant sur plusieurs paramètres physiologiques et biochimiques. Les mesures sont effectuées sur les plantes au même stade de développement sur la troisième feuille après l'obtention de la quatrième feuille.

4.3.1. Taux de chlorophylle totale (SPAD index, TCT)

La teneur en chlorophylle a été déterminée à l'aide d'un chlorophylle-mètre de type *minolta SPAD 502* (Spectrum Technology, Inc. IL. USA) (Figure 8). C'est un radiomètre manuel dont la mesure correspond à un rapport entre les réflectances de la feuille dans le rouge (650 nm) et le proche infrarouge (940 nm) (Kotchi, 2004). Après une calibration effectuée « à vide » pour déterminer une mesure de référence à 100 % de transmission, l'appareil calcule le ratio des transmittances dans les 2 bandes spectrales, qui est proportionnel à la teneur en chlorophylles dans la feuille, exprimé en unité arbitraire (ou unité SPAD). La mesure donnée est une moyenne de trois lectures qui ont été effectuées le long de la section médiane de la feuille (Bouchemal, 2018). Nous avons donc effectué une mesure par plante avec trois répétitions pour chaque traitement.

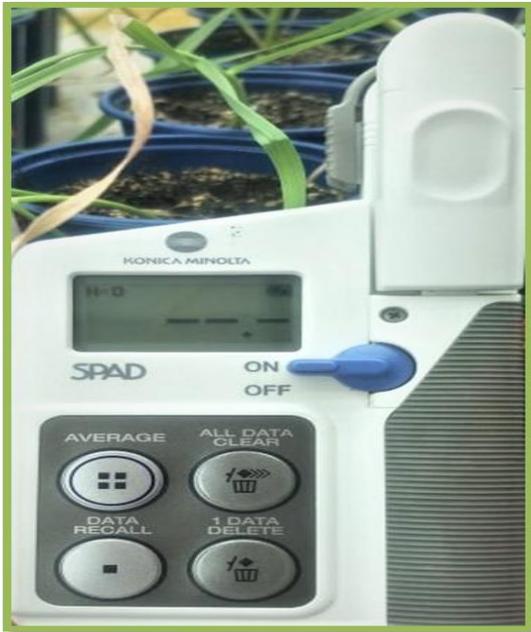


Figure 8 : Chlorophylle mètre *minolta* SPAD 502.

4.3.2. Teneur relative en eau (TRE, %)

La teneur relative en eau permet de connaître le niveau de saturation en eau ou de turgescence de la plante. Elle a été déterminée selon la méthode décrite par Barrs (1968). Les feuilles sont coupées à la base du limbe, pesées immédiatement pour obtenir le poids frais (PF), puis aussitôt mises dans des tubes à essai remplis d'eau distillée fermés afin de maintenir une humidité relative saturante et placés à l'obscurité dans un endroit frais. Après 24 h les feuilles sont retirées, passées dans un papier buvard pour absorber l'eau de la surface, pesées de nouveau pour obtenir le poids de pleine turgescence (PT). Les échantillons sont ensuite mis à l'étuve à 80 °C pendant 48 h et pesés pour avoir le poids sec (PS). La teneur relative en eau est ensuite calculée d'après la formule de Clarcke et McCraig (1982), comme suit :

$$\text{TRE (\%)} = [(\text{PF}-\text{PS}) / (\text{PT}-\text{PS})] \times 100$$

Où :

- ❖ PF : correspond au Poids Frais ;
- ❖ PT : correspond au Poids de Turgescence ;
- ❖ PS : correspond au Poids Sec.

4.3.3. Dosage de la proline ($\mu\text{g}/100\text{mg MF}$)

La proline a été dosée par la méthode de Troll et Lindsley (1955), simplifiée et mise au point par Rasio et *al.* (1987). Le principe repose sur la quantification de la réaction proline-ninhydrine par mesure spectrophotométrique. La proline se couple avec la ninhydrine en formant un complexe coloré. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de proline dans l'échantillon (Bouزيد, 2010).

La procédure consiste à prendre 100 mg de matière fraîche dans des tubes à essai contenant 2 ml de méthanol à 40 %. Le tout est chauffé à 85 °C dans un bain-marie pendant 60 minutes. (Les tubes sont recouverts de papier aluminium pendant le chauffage pour éviter la volatilisation de l'alcool.) Après refroidissement ; on prélève 1 ml d'extrait auquel on ajoute :

- ❖ 1 ml d'acide acétique (CH_3COOH) ;
- ❖ 25 mg de ninhydrine ($\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_4$) ;
- ❖ 1 ml d'un mélange contenant :
 - 120 ml d'eau distillée ;
 - 300 ml d'acide acétique ;
 - 80 ml d'acide orthophosphorique ($\text{H}_3\text{PO}_4.d=1.7$).

La solution obtenue est portée à ébullition pendant 30 minutes à 100 °C, elle vire au rouge, après refroidissement. 5 ml de toluène sont rajoutés à la solution qui est agitée, deux phases se forment (une phase supérieure à la couleur rouge contenant la proline et une phase inférieure transparente sans proline). Après avoir éliminé la phase inférieure, la phase supérieure est récupérée puis déshydratée par l'ajout de 5mg de Sulfate de Sodium Na_2SO_4 anhydre (pour éliminer l'eau qu'elle contient). L'absorbance est lue à une longueur d'onde de 528 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Les concentrations sont déterminées à partir d'une courbe étalon (Figure 9).

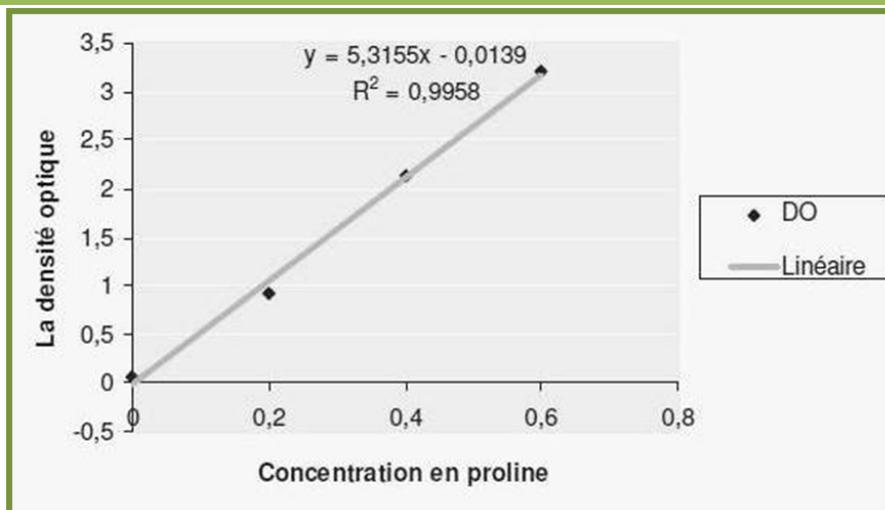


Figure 9 : Courbe d'étalonnage de la proline.

4.3.4. Dosage des sucres solubles ($\mu\text{g}/100\text{mg MF}$)

Les sucres solubles sont dosés par la méthode du phénol selon la procédure de Dubois, (1956). Pour l'extraction:

100 mg de matière fraîche, est disposées dans des tubes à essais, en présence de 3 ml d'éthanol à 80 % ; puis laisser à l'obscurité à température ambiante pendant 48 h. Au moment du dosage les tubes sont placés dans l'étuve à 80 °C afin d'évaporer l'alcool. Une fois l'alcool complètement évaporé on rajoute dans chaque tube 20 ml d'eau distillée, c'est la solution à analyser. Dans des tubes à essais propres, on prend 2 ml de la solution à analyser, à laquelle on ajoute rapidement 1 ml de phénol à 5 % et 5 ml d'acide sulfurique concentré à 96 %. On obtient alors, une solution jaune orange à la surface, qu'on passe au vortex pour homogénéiser la couleur. On laisse les tubes reposer pendant 10 minutes à température ambiante et à l'obscurité puis on les places au bain-marie pour 15 minutes à une température de 30 °C. L'absorbance est lue à une longueur d'onde 528 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Les concentrations sont déterminées à partir d'une courbe étalon (Figure 10).

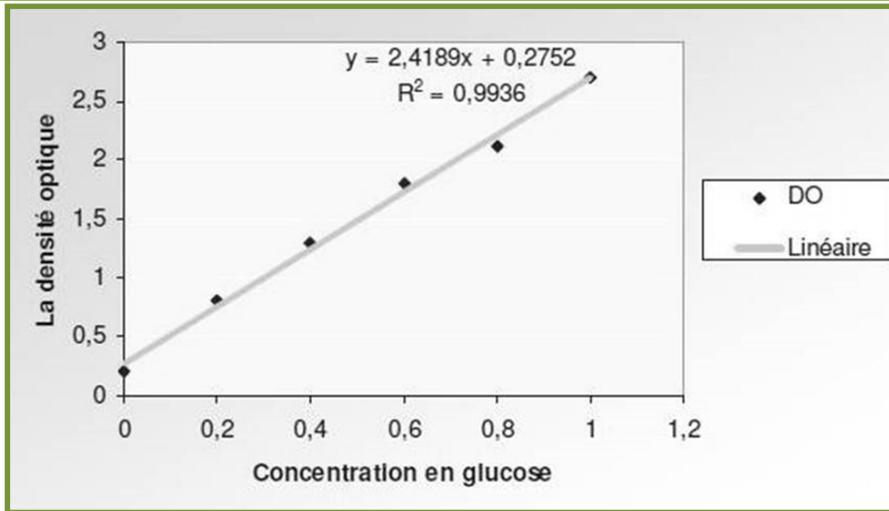


Figure 10 : Courbe d'étalonnage des sucres solubles.

4.3.5. Analyse et traitement des données

Dans le but de mieux décrire les différentes variables précédemment mentionnées, la moyenne a été calculée ainsi que l'écart type, à l'aide du logiciel d'analyse statistique Xlstat 2010.

Afin de tester les différences entre les traitements, les durées, les génotypes et leur interaction, une analyse de variance a également été réalisée à l'aide du logiciel d'analyse statistique Xlstat 2010.

4.4. Électrophorèse monodimensionnel SDS-PAGE

Les protéines sont des biomolécules jouant un rôle dans la structure et la fonction de la cellule et qu'on on peut isoler, analyser et bien sûr étudier. L'un des outils permettant justement leur analyse est l'électrophorèse qui est une technique permettant la séparation des molécules chargées dans un champ électrique.

L'électrophorèse monodimensionnelle de type SDS-PAGE s'appuie sur un système de tampon discontinu à la fois en concentration et en pH. Elle a été réalisée selon la méthode de Laemmli (1970) décrite par De Leonardis et *al.*, (2007).

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 permettant ainsi de les séparer uniquement en fonction de leur masse moléculaire. Il confère une charge négative aux protéines et permet leur migration vers l'anode (Dicko et Mamoudou, 2006). Deux ions de mobilité électrophorétiques différentes forment un front de migration lorsque le voltage est appliqué.

Avant de procéder à la dénaturation des protéines avec du SDS, on utilise un agent réducteur, le β -mercaptoéthanol qui coupe et casse les liaisons et les ponts disulfures des protéines, les rendant ainsi sous forme monomérique. 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. Pour réaliser cette technique on utilise deux gels ; un gel de séparation et un gel de concentration possédant des concentrations d'acrylamide bien spécifiques suivant les besoins de la séparation (Jangpromma et *al.*, 2007).

4.4.1 Extraction des protéines totales foliaires

Commencer tout d'abord par peser 100 mg de matière fraîche (feuilles témoins et stressées). Les échantillons pesés sont ensuite broyés dans de l'azote liquide jusqu'à l'obtention d'une poudre fine qui est conservée dans des tubes Eppendorfs de 2ml à -80°C jusqu'à utilisation.

L'extraction à proprement parler consiste à ajouter au broyat 1.8 ml de la solution de précipitation (solution A, Annexe 1). Après homogénéisation, les tubes Eppendorfs sont placés à -20°C pendant une nuit. Une fois ceci fait, on procède à une centrifugation pendant 20mn à 4°C et à 10 000rpm. Le surnageant est alors éliminé délicatement en renversant le tube et en veillant à ne pas décoller le culot. Ce dernier est lavé en utilisant 1.8 ml de la solution de rinçage (solution B, Annexe 1). Les tubes sont alors maintenus pendant une heure à -20°C pour ensuite éliminer le surnageant à nouveau. A noter que cette étape a été répétée. Dans un dessiccateur et pendant 30minutes à 60°C , on effectue le séchage des culots qui sont au final resuspendus dans 200 μl de tampon de Laemmli. Après une étape de bain mari de 5 min à 95°C (afin de favoriser la dénaturation des protéines), le surnageant obtenu après une centrifugation de 10 min à 10 000rpm à température ambiante a servi pour les dépôts.

4.4.2 Préparation et coulage des gels

La méthode de séparation par SDS-PAGE, comme nous l'avons précédemment mentionné, s'appuie sur un système de tampon discontinu. La plupart des systèmes discontinus présentent des discontinuités à la fois en concentration et en pH. Les échantillons sont en fait déposés au-dessus dans un gel à larges pores (ou gel de concentration, en anglais *stacking gel*) permettant de retenir les impuretés et de tasser les protéines. Ce dernier est polymérisé au-dessus du gel de séparation proprement dit qui permet de fractionner les différentes protéines selon leurs poids moléculaires.

Le système d'électrophorèse est constitué de deux plaques : une plaque 'réservoir' portant la cuve d'électrophorèse et une plaque 'gel' portant le gel d'acrylamide. Les deux plaques doivent préalablement être nettoyées et puis assemblées et fixées à l'aide de pinces.

❖ Le gel de séparation (runing gel)

La concentration finale du gel est de 12 % et ses dimensions sont de 7,3 x 6 cm. Il est constitué d'acrylamide, de N-N'-méthylène-Bis acrylamide (40 %), de Tris HCl à pH = 8,8, de SDS à 10 % et d'eau distillée. La polymérisation est assurée par l'ammonium persulfate (APS) à 10 % et le TEMED (Annexe 2), qui sont ajoutés en dernier.

Après avoir mélangé le gel, ce dernier est coulé à l'aide d'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 applique une fine couche de butanol saturé en eau (Annexe 2) pour aplatir le gel et faire une barrière contre l'air afin d'accélérer la polymérisation qui prendra 30 à 35 min. Il permet également d'éviter la formation des bulles d'air à la surface. Quand le gel se polymérise, on élimine le butanol par rinçage avec l'eau distillée 2 à 3 fois.

❖ Le gel de concentration (stacking gel)

La concentration finale du gel est de 4% et ses dimensions sont de 7,3 x 2 cm. IL comporte les mêmes constituants que le gel de séparation, avec les mêmes concentrations sauf pour le Tris HCl qui a un pH de 6,8 au lieu de 8,8 (Annexe 2). 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 20 à 30 minutes, les peignes sont alors retirés soigneusement pour ne pas détériorer les puits. Enfin, le tampon d'électrophorèse contenant de la glycine 1,29M, du Tris 0,25M et du SDS à 1 % (Annexe 2) est versé dans les puits.

4.4.3. Dépôt des échantillons et migration

Juste avant les dépôts, les échantillons sont décongelés. On dépose 20 µl d'échantillons par puits à l'aide d'une microseringue. Le premier puits est réservé au marqueur de poids moléculaire Kit LMW (*Low Molecular Weight*) Ge Healthcare UK (Tableau 2).

Tableau 2 : Poids moléculaire des protéines de références du Kit LMW (*Low Molecular Weight*).

Protéine	Poids moléculaire (KDa)
Phosphorylase b	97
Albumine sérique bovine	66
Ovalbumine	45
Carbonique anhydrase	30
Inhibiteur de la trypsine	20.1
a-lactalbumine	14.4

Après le dépôt des différents échantillons, le dispositif est mis en place et la cuve d'électrophorèse est remplie avec un volume suffisant de tampon de migration. 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 tension déterminée à 200V et une intensité déterminée à 70mA et sera maintenue jusqu'à ce que le front de migration atteigne le bas du gel (Figure 11).



Figure 11 : Dispositif d'électrophorèse SDS-PAGE des protéines totales.

4.4.4. Révélation des gels

Les gels ont été colorés au bleu de coomassie dans un mélange de 45 % de méthanol, 10 % d'acide acétique et 0.25 % de bleu de coomassie (Annexe 3). La coloration fut faite à température ambiante sous agitation constante. Les gels ont ensuite été décolorés dans un mélange de 30 % de méthanol et de 10 % d'acide acétique et de l'eau distillée (solution de décoloration) (Annexe 3).

4.4.5. Traitement des données

Les photos des gels obtenues ont été analysées à l'aide du logiciel *Ecapt*. Il calcule le poids moléculaire de chaque bande détectée, en effectuant une comparaison entre son rapport frontal et celui des différentes bandes du marqueur de poids moléculaire (dont les tailles sont connues).

Chapitre III Résultats et discussion

1. Effet des stress salin et hydrique sur la germination

1.1. Variation des taux de germination finale (G, %) et indice de tolérance (IT)

L'impact des stress salin et hydrique sur le comportement germinatif peut être considéré comme un bon indicateur du degré de tolérance des plantes vis-à-vis de ces deux contraintes. Bien qu'il ne reproduise pas intégralement le comportement des plantes, en conditions de stress, le taux de germination nous renseigne de manière plus ou moins précise sur leur aptitude à tolérer le stress.

Le taux de germination est rapporté dans les figures 12 et 13. Les résultats indiquent que le pourcentage de germination des deux variétés de blé dur étudiées est variable en fonction du type d'osmoticums utilisé, de la concentration imposée et de la variété elle-même.

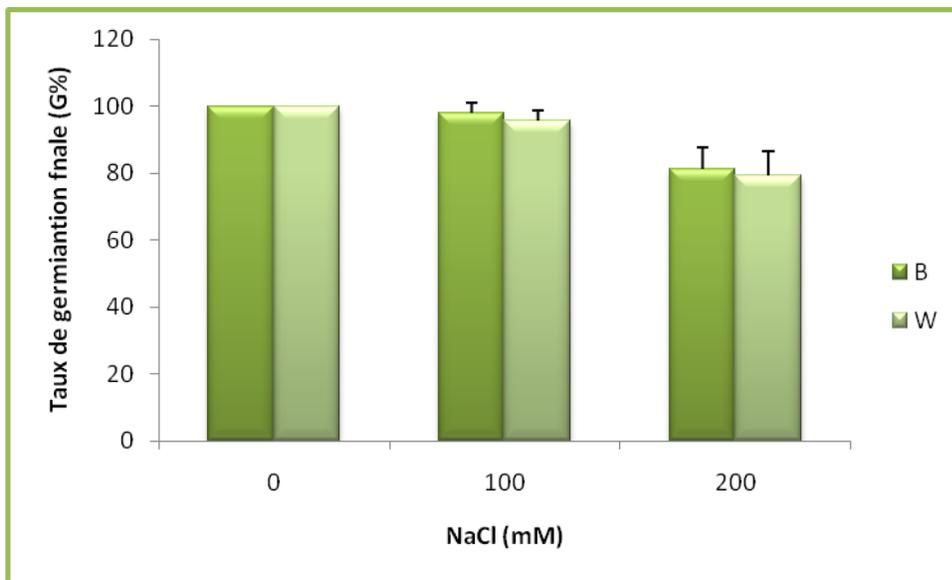


Figure 12 : Evolution de la capacité de germination sous condition contrôle (0 mM) et sous différentes conditions de stress salin (NaCl à 100 et 200 mM) chez les deux variétés de blé dur étudiées. Les valeurs constituent les moyennes \pm écarts types (n=3).

Globalement, en absence de stress l'ensemble des graines testées ont germé avec un taux atteignant les 100 % que ce soit chez la variété Beliouni que chez la variété Waha. En condition de stress salin, pour une concentration de 100mM de NaCl, le taux de germination reste assez élevé avec des valeurs aux alentours de 97.92 % pour la variété Beliouni et de 95.83 % pour la variété Waha. Tandis qu'en présence de 200 mM de NaCl, la capacité de germination diminue

pour atteindre un taux de 81.25 % chez Belioni en notant une réduction plus marquée chez Waha avec 79,17 %.

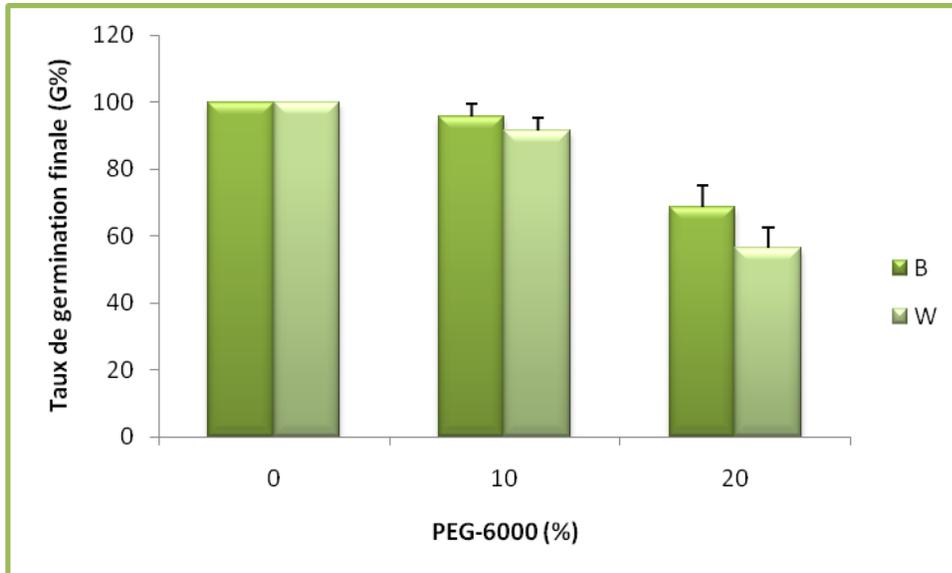


Figure 13 : Evolution de la capacité de germination sous condition contrôle (0%) et sous différentes conditions de stress hydrique (PEG-6000 à 10% et 20%) chez les deux variétés de blé dur étudiées. Les valeurs constituent les moyennes \pm écarts types (n=3).

Suite à une exposition à un stress modéré en présence de 10% de PEG-6000, les valeurs observées varient entre 95.83 % pour la variété Belioni et 91.67 % pour la variété Waha. A noter qu'elles semblent être légèrement plus basses que celles observées en présence d'un stress salin modéré. Cette baisse est d'ailleurs plus distincte pour un traitement de 20% de PEG-6000, où l'on enregistre un taux minimal de 56.25 % chez la variété Waha comparativement à Belioni avec un taux maximal de 68.75%.

Les résultats sont vérifiés par l'analyse de la variance et la comparaison des moyennes, ce qui fait ressortir un effet traitement très hautement significatif ($p < 0.001$) pour le PEG-6000 et pour le NaCl ainsi qu'un effet génotype hautement significatif ($p < 0.01$) et un effet interaction significatif en présence de PEG-6000.

Tableau 3 : Carrés moyens de l'analyse de variance du pourcentage de germination finale (G, %) des deux variétés de blé dur testées à 0, 100 et 200 mM de NaCl.

	Paramètre
Facteurs	G%
Traitements (T)	679,253 ^{***}
Génotypes (G)	8,681 ^{ns}
Interaction (T x G)	2,170 ^{ns}

ns : effet non significatif, * : effet significatif $p < 0,05$, ** : effet hautement significatif $p < 0,01$, *** : effet très hautement significatif $p < 0,001$.

Tableau 4 : Carrés moyens de l'analyse de variance du pourcentage de germination finale (G, %) des deux variétés de blé dur testées à 0, 10 et 20% de PEG-6000.

	Paramètre
Facteurs	G%
Traitements (T)	536,016 ^{***}
Génotypes (G)	138,889 ^{**}
Interaction (T x G)	60,764 [*]

ns : effet non significatif, * : effet significatif $p < 0,05$, ** : effet hautement significatif $p < 0,01$, *** : effet très hautement significatif $p < 0,001$.

Les données obtenues indiquent également que toutes les graines ne présentent pas une capacité identique à tolérer les stress imposés. La variété Beliouni présente l'indice de tolérance le plus élevé pour le taux de germination quel que soit le traitement appliqué par rapport à la variété Waha. Les indices de tolérance enregistrés sur l'ensemble des trois répétitions de l'expérience montrent que le génotype Beliouni s'avère être le plus vigoureux et celui qui tolère le mieux les stress salin et hydrique.

Nos résultats indiquent un effet dépressif du NaCl et du PEG-6000 sur le pouvoir germinatif des graines, quelle que soit la concentration administrée. Ceci concorde avec les résultats de travaux antérieurs (Khayatnezhad et Gholamin, 2011 ; Mrani Alaoui et *al.*, 2013 ; Benderaddji et

al., 2016). De plus un stress sévère imposé par l'addition de PEG-6000 semble avoir un plus grand impact sur ce paramètre (Almansouri et *al.*, 2001).

Selon Ndour et Danthu., (1998) les différences génotypiques observées s'expliquent par le fait que la germination est contrôlée aussi bien par des caractéristiques génotypiques que par les conditions environnementales. D'après Khayatnezhad et Gholamin., (2011), la présence des agents de stress (le chlorure de sodium ou le polyéthylène glycol) dans le milieu de germination réduit l'absorption de l'eau conduisant à une difficulté d'hydratation des semences. Ce qui va inhiber la translocation des réserves vers l'axe embryonnaire en croissance. De plus, Smith et Comb., (1991), ont noté que la salinité peut affecter la germination, en raison de l'absorption des ions toxiques, qui peuvent causer des changements dans les activités enzymatiques ou hormonales des semences.

1.2 Variation de la germination moyenne journalière (MDG, %)

L'examen des résultats illustrés dans les figures 14 et 15 indique un retard de la germination des graines ainsi qu'une diminution de la moyenne de germination journalière ; et ceux pour les deux génotypes testés proportionnellement avec l'augmentation de l'intensité du stress. On remarque qu'en condition contrôle, le taux moyen de germination journalière atteint les 14,25 % chez les deux variétés étudiées.

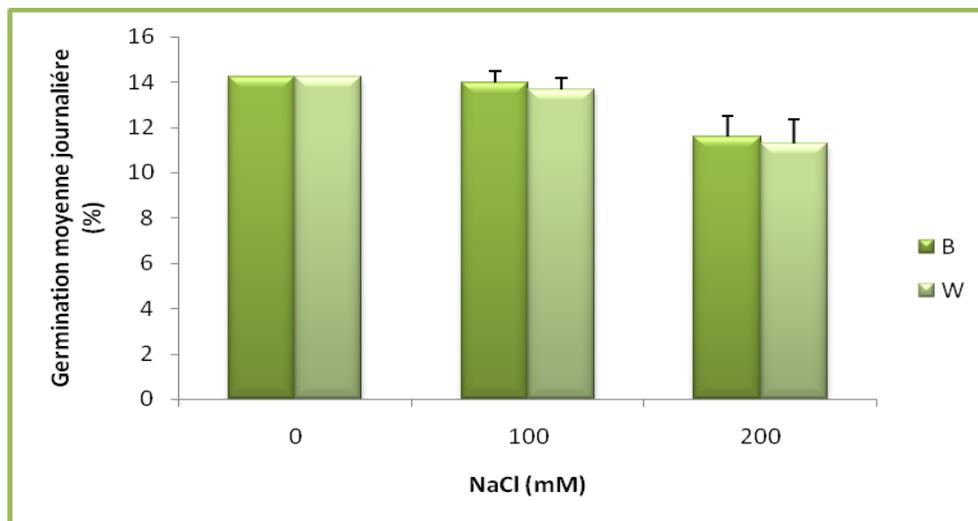


Figure 14 : Effets de différentes concentrations de NaCl (0, 100 et 200 mM) sur la moyenne journalière de germination des variétés de blé dur étudiées. Les valeurs constituent les moyennes \pm écarts types (n=3).

On remarque également que ces moyennes sont toujours plus élevées pour Beliouni que pour Waha, quelle que soit la concentration de l'agent de sélection utilisé. En présence du NaCl ou du PEG-6000, ce paramètre diminue progressivement chez les deux variétés de blé dur testées. En effet, pour un stress de 100mM de NaCl, les valeurs enregistrées pour les variétés Beliouni et Waha sont de 13,96 % et 13,68 % respectivement. Elles subissent donc une faible diminution par rapport aux témoins. Pour ce qui est du traitement à 200 mM, les valeurs enregistrées continuent à baisser pour atteindre 11,6 % et 11,3 % respectivement pour les deux variétés.

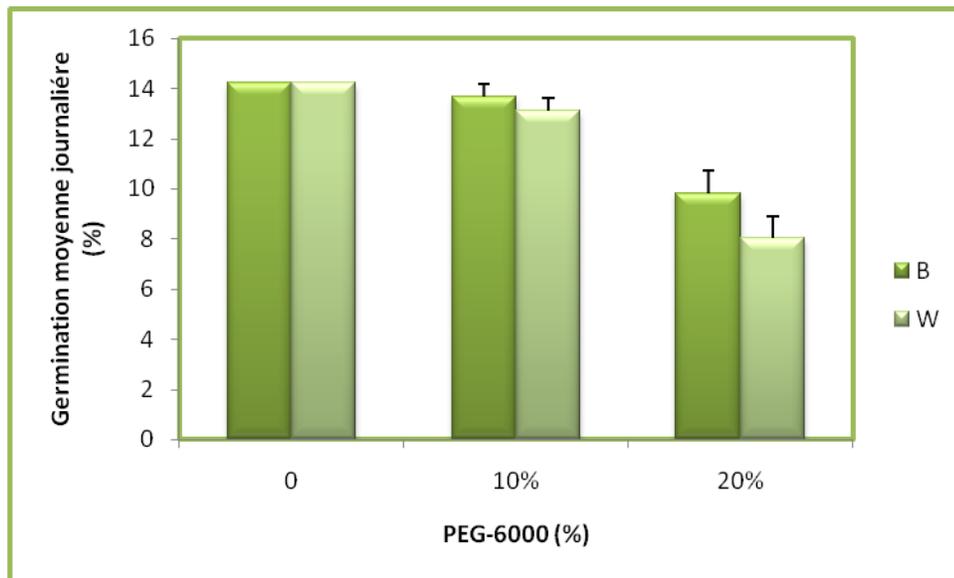


Figure 15 : Effets de différentes concentrations de PEG-6000 (0, 10% et 20%) sur la moyenne journalière de germination des variétés de blé dur étudiées. Les valeurs constituent les moyennes \pm écarts types (n=3).

En présence de 10% de PEG-6000, la germination moyenne journalière reste quand même élevée avec des valeurs aux alentours de 13.68 % pour la variété Beliouni et de 13.09 % pour la variété Waha. Alors que pour une concentration de 20% de PEG-6000 les valeurs enregistrées diminuent considérablement. Ces dernières passent donc à 9.8% et 8.01% respectivement chez Beliouni et Waha.

D'après Bliss *et al.*, (1986), le retard de germination des graines se fait en fonction de la concentration de l'osmoticum utilisé et est couplé avec la diminution de la moyenne de germination journalière. Cette réduction serait due au temps que va prendre chaque génotype pour ajuster la pression osmotique interne de ses tissus.

De nombreux travaux mettent en évidence une telle diminution chez des variétés de blé dur soumises à différents niveaux de stress salin (Khan et Balz, 2018) et chez le Pin de Calabre en condition de stress hydrique (Boydak *et al.*, 2003).

1.3 Evolution de la cinétique de germination (CG, %)

Les différentes concentrations de NaCl et de PEG-6000 exercent un effet sur l'évolution du taux de germination des deux génotypes au cours du temps. D'après les cinétiques de germination, on constate que les stress salin et hydrique ont provoqué une augmentation du temps nécessaire pour la germination chez le lot de graines testées.

En condition standard, les deux génotypes ont enregistré un taux maximal après seulement 2 jours d'incubation. L'application du stress, a par contre, rallongé le temps de germination. Une durée qui varie en fonction du génotype et des concentrations de NaCl et de PEG-6000, mais en étant toujours plus longues chez la variété Waha.

Les résultats qui concernent la variété Beliouni montrent qu'un stress de 100mM de NaCl ou de 10% de PEG-6000 va faire en sorte que le taux maximal soit atteint au quatrième jour (Figure.16. et .17.). Tandis qu'en présence de fortes doses c'est-à-dire 200mM de NaCl et 20% de PEG-6000 on constate une stagnation des taux au septième jour (Figure 16 et 17).

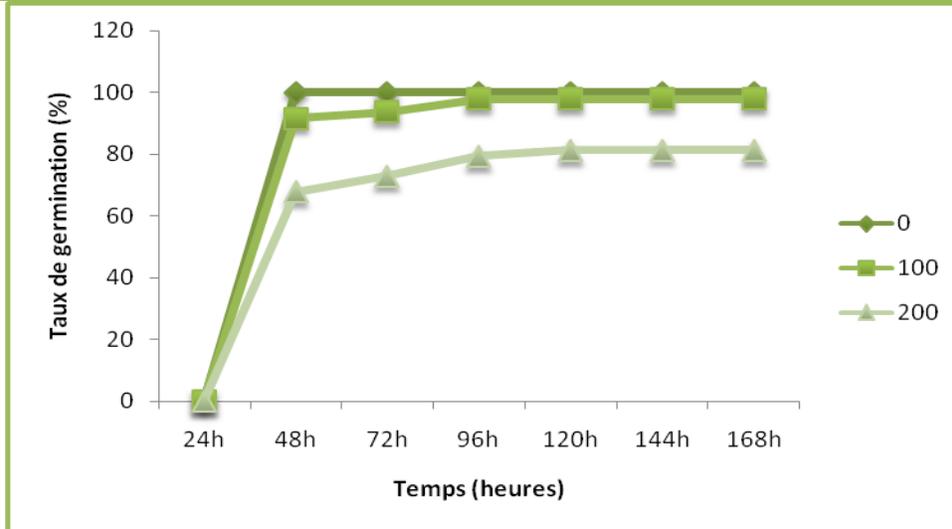


Figure 16 : Effets de différentes concentrations de NaCl (0, 100 et 200 mM) sur la cinétique de germination de la variété Beliouni.

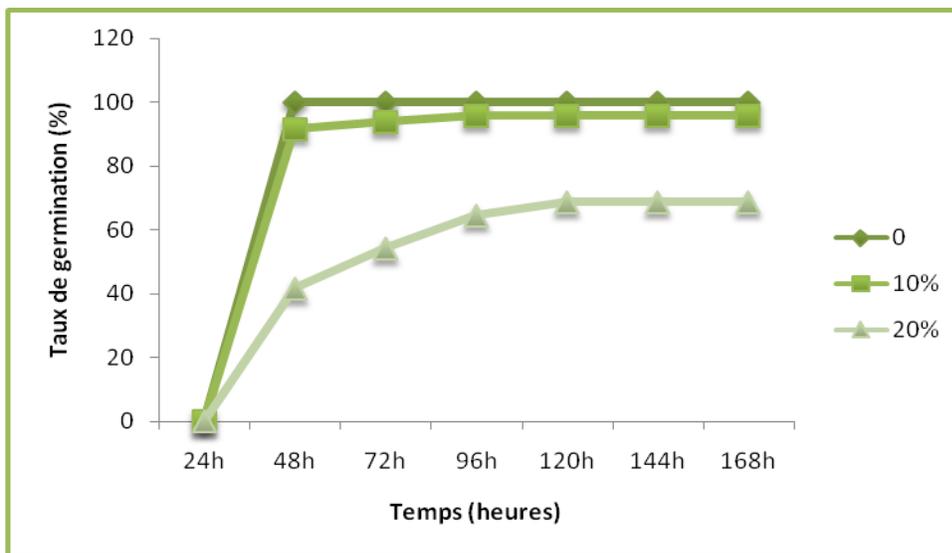


Figure 17 : Effets de différentes concentrations de PEG-6000 (0, 10% et 20%) sur la cinétique de germination de la variété Beliouni.

Pour ce qui est de la variété Waha, le taux maximal est atteint après quatre jours à la suite desquels on constate une stagnation en présence de 10% de PEG-6000 (Figure.19.). Pour ce qui est des concentrations restantes à savoir 100 mM et 200 mM de NaCl et 20% de PEG-6000, les valeurs maximales sont atteintes au bout de 5 jours et toujours avec des taux de germination plus

faibles (Figure18 et 19). Il s'agit d'un palier représentant le pourcentage final de germination et traduisant la capacité germinative de chaque variété sous l'effet des deux osmotocums et pour chaque concentration.

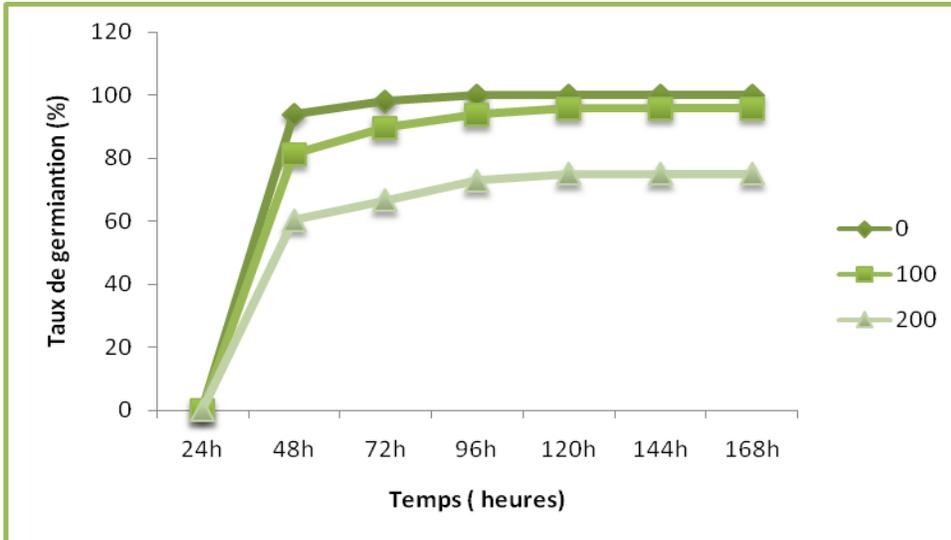


Figure 18 : Effets de différentes concentrations de NaCl (0, 100 et 200 mM) sur la cinétique de germination de la variété Waha.

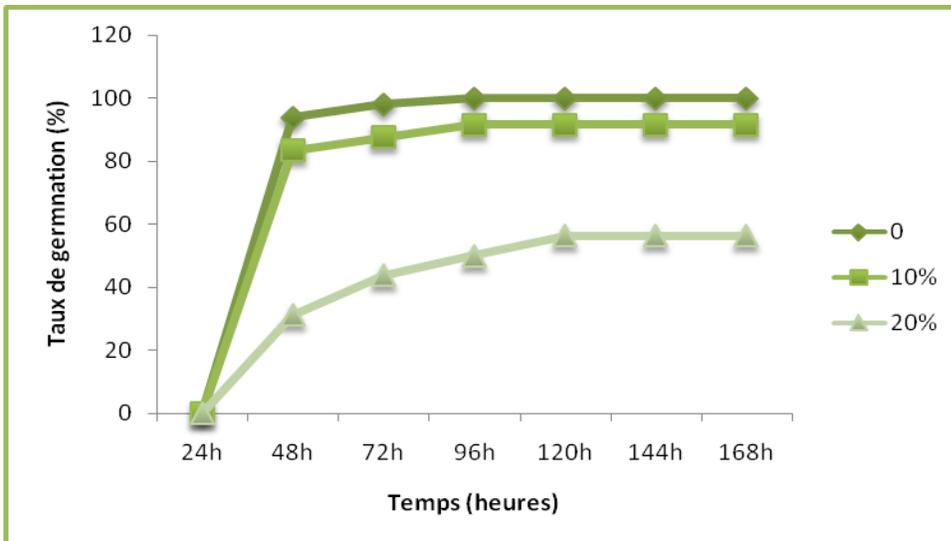


Figure 19 : Effets de différentes concentrations de PEG-6000 (0, 10% et 20%) sur la cinétique de germination de la variété Waha.

Ces résultats sont cohérents avec ceux trouvés par Sayar et *al.*, (2010) chez le blé, et qui ont affirmé que la salinité ou la sécheresse du milieu de croissance peuvent affecter la germination des semences en réduisant la facilité avec laquelle ces dernières absorbent l'eau.

D'après Ben Miled et *al.*, (1986), ce retard peut être expliqué par le temps nécessaire à la graine pour mettre en place des mécanismes lui permettant d'ajuster sa pression osmotique interne. Alors que Ghrib et *al.*, (2011), ont expliqué que ce retard pouvait être dû à l'altération des enzymes et des hormones qui se trouvent dans la graine en cas de toxicité causée par le stress salin.

1.4 Evolution des longueurs racinaires (LR, cm) et nombre de racines (NBR)

Les résultats de l'analyse du système racinaire sont présentés dans les figures 20 et 21. En conditions normales, les longueurs racinaires varient entre 11.1 cm chez Beliouni et 9.5 cm chez Waha. Alors qu'en présence d'un stress salin modéré (100mM de NaCl) les longueurs passent à 7.7 cm chez Beliouni et à 8.2 cm chez Waha. En revanche, un stress salin sévère (200 mM de NaCl) entraîne une diminution considérablement des valeurs enregistrées. Les longueurs racinaires sont alors de 3.8 cm et de 3.4 cm respectivement pour Beliouni et Waha (Figure 20).

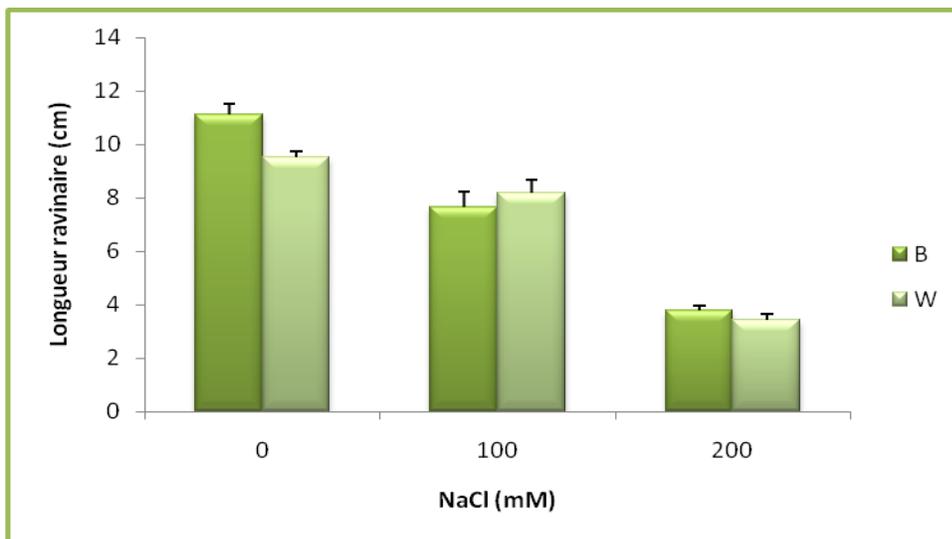


Figure 20 : Evolution de la longueur racinaire sous condition contrôle (0 mM) et sous différentes conditions de stress salin (NaCl à 100 et 200 mM) chez les variétés de blé dur étudiées. Les valeurs constituent les moyennes \pm écarts types (n=3).

En présence de 10% de PEG les valeurs notées sont de l'ordre de 8.5 cm chez Belioni et de 7.2 cm chez Waha. Les réductions les plus importantes sont observées sous une concentration de 20% de PEG avec une valeur de 2.9 cm chez Belioni et de 1,6 cm chez Waha (Figure 21).

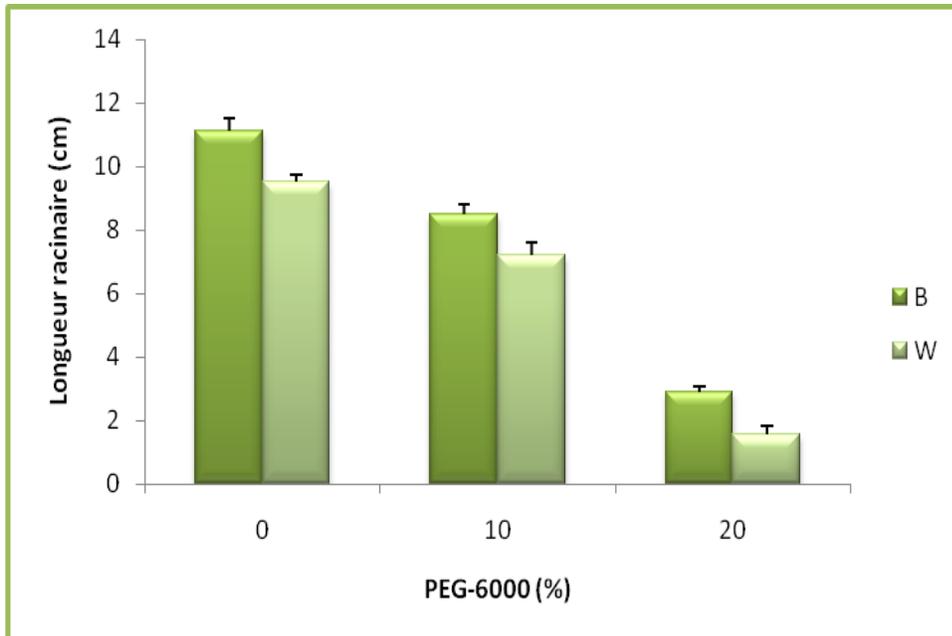


Figure 21 : Evolution de la longueur racinaire sous condition contrôle (0%) et sous différentes conditions de stress hydrique (PEG-6000 à 10% et 20%) chez les variétés de blé dur étudiées. Les valeurs constituent les moyennes \pm écarts types (n=3).

L'analyse de la variance à deux facteurs du paramètre longueur des racines (Tableaux 5 et 6) montre que le stress salin appliqué aux variétés Belioni et Waha a un effet très hautement significatif concernant le traitement pour les deux osmoticum et pour l'interaction en présence de NaCl. Pour l'effet génotype, il est très hautement significatif en présence de PEG-6000 et hautement significatif en présence de NaCl.

Concernant le nombre de racines, on note une réduction chez les plantes stressées comparativement aux témoins des génotypes étudiés (Figures 22 et 23). En condition contrôle, le nombre de racines reste plus élevé avec une moyenne de 5 racines par plantule chez Belioni et 4 racines par plantule chez Waha. En revanche en conditions stressantes, on observe des systèmes racinaires moins ramifiés et moins développés. Suite à l'application d'un stress salin modéré ou sévère, les deux variétés exhibent des valeurs qui oscillent entre un maximum de 4 racines contre un minimum de 3 racines par plantule. En présence de 10% de PEG, le nombre de racines est le

même chez les deux variétés avec une moyenne de 4 racines par plantule. Toutefois, il semblerait qu'un stress hydrique sévère ait une plus grande incidence que le NaCl à forte concentration en faisant diminuer considérablement ce dernier à 2 racines chez Beliouni et une seule racine chez Waha. L'analyse de variance pour ce paramètre et sous PEG-6000 révèle un effet très hautement significatif du facteur traitement et hautement significative pour le facteur génotype. Pour le traitement NaCl l'analyse révèle un effet très hautement significatif pour les facteurs traitement et génotype ainsi qu'une interaction (traitement \times génotype) hautement significative

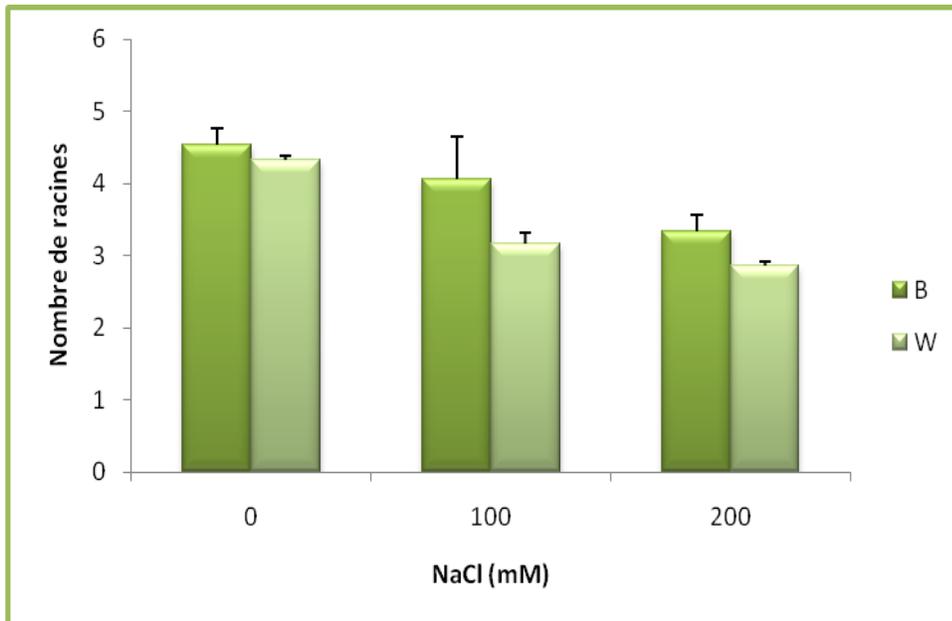


Figure 22 : Nombre de racines sous condition contrôle (0 mM) et sous différentes conditions de stress salin (NaCl à 100 et 200 mM) chez les variétés de blé dur étudiées. Les valeurs constituent les moyennes \pm écarts types (n=3).

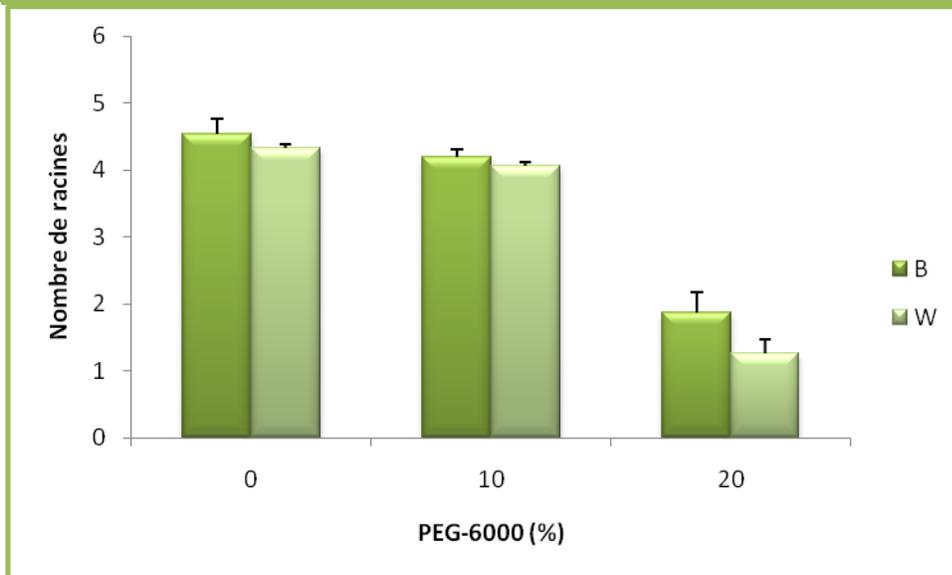


Figure 23 : Nombre de racines sous condition contrôle (0%) et sous différentes conditions de stress hydrique (PEG-6000 à 10% et 20%) chez les variétés de blé dur étudiées. Les valeurs constituent les moyennes \pm écarts types (n=3).

Les résultats obtenus pour les longueurs racinaires et le nombre de racines sont similaires à des travaux antérieurs notamment ceux d'Almansouri *et al.*, (2001), portant sur des variétés de blé dur soumises à différentes concentrations de NaCl et de PEG-6000 et ceux de Haoula *et al.*, (2007).

Ces constatations faites au niveau de la partie racinaire des plantes stressées seraient probablement dues à un arrêt de la division et de l'élongation cellulaire au niveau des racines (Bendarradji *et al.*, 2016 ; Radhouane, 2007).

1.5 Evolution des longueurs de l'épicotyles (LE, cm)

La longueur de l'épicotyle des plantules diminue avec l'augmentation de l'intensité du stress (Figures 24 et 25). En conditions témoins, la longueur de l'épicotyle atteint les 6.53 cm chez Beliouni et 3.43 cm chez Waha. Alors qu'une concentration de 100 mM de NaCl réduit clairement la longueur de ces derniers qui passent à 4.17 cm chez Beliouni et à 1.73 cm chez Waha. Tandis qu'en présence de 200mM de NaCl la réduction est encore plus considérable avec des valeurs allant de 0.83 cm à 0.57 cm respectivement chez Beliouni et Waha.

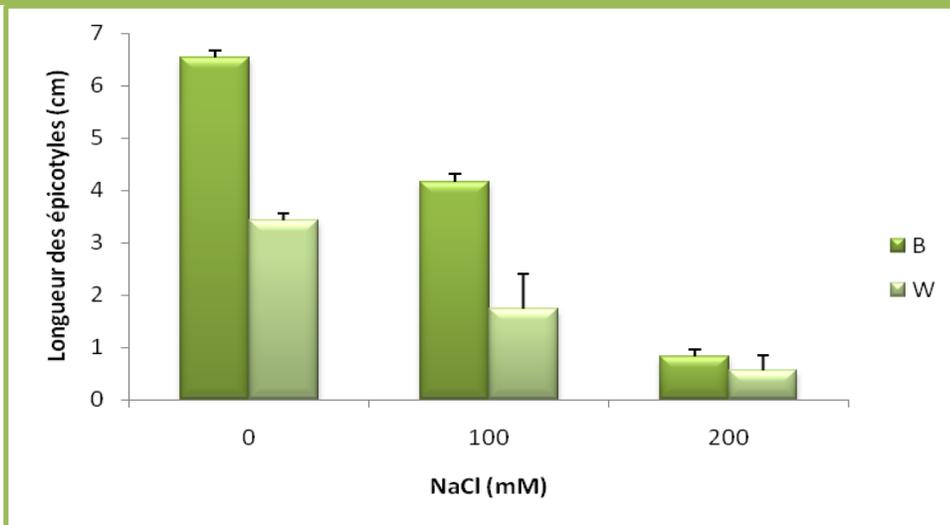


Figure 24 : Evolution de la longueur des épicotyles sous condition contrôle (0 mM) et sous différentes conditions de stress salin (NaCl à 100 et 200 mM) chez les variétés de blé dur étudiées. Les valeurs constituent les moyennes \pm écarts types (n=3).

En présence de 10% de PEG-6000, la longueur des épicotyles est de 4.93 cm chez la variété Belioni et de 2.9 cm chez la variété Waha. En revanche le traitement de 20% de PEG-6000 entraîne une réduction sérieuse en notant des valeurs quasiment proches du 0 pour Belioni et Waha (0.43 et 0.27 respectivement) (Figure 25).

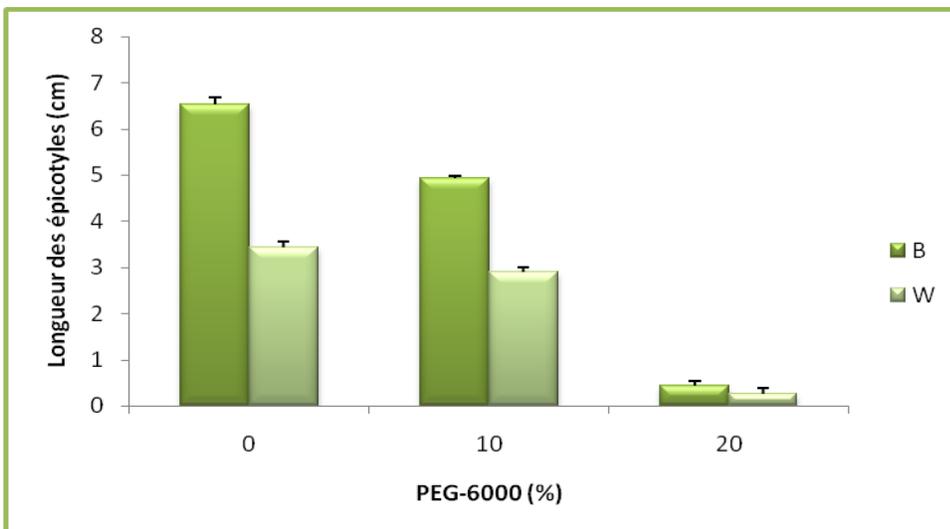


Figure 25 : Evolution de la longueur des épicotyles sous condition contrôle (0%) et sous différentes conditions de stress hydrique (PEG-6000 à 10% et 20%) chez les variétés de blé dur étudiées. Les valeurs constituent les moyennes \pm écarts types (n=3).

L'analyse de la variance à deux facteurs du paramètre longueur des épicotyles (Tableaux 5 et 6) montre que le stress salin (NaCl) et le stress hydrique (PEG-6000) appliqué aux variétés Beliouni et Waha ont été très hautement significatif pour les facteurs génotype et traitement ainsi que pour leur interaction.

Tableau 5 : Carrés moyens de l'analyse de variance du pourcentage de germination finale (G, %), des longueurs racinaires (LR), du nombre de racines (NBR) et de la longueur des épicotyles (LE) des deux variétés de blé dur testées sous conditions de stress salin (NaCl).

Paramètres			
Facteurs	LR	NBR	LE
Traitements (T)	69,876 ^{***}	2,712 ^{***}	27,544 ^{***}
Génotypes (G)	0,980 ^{**}	1,227 ^{***}	16,820 ^{***}
Interaction (T x G)	1,727 ^{***}	0,187 ^{**}	3,292 ^{***}

ns : effet non significatif, * : effet significatif $p < 0,05$, ** : effet hautement significatif $p < 0,01$, *** : effet très hautement significatif $p < 0,001$.

Tableau 6 : Carrés moyens de l'analyse de variance du pourcentage de germination finale (G, %), des longueurs racinaires (LR), du nombre de racines (NBR) et de la longueur des épicotyles (LE) des deux variétés de blé dur testées sous conditions de stress hydrique (PEG-6000).

Paramètres			
Facteurs	LR	NBR	LE
Traitements (T)	103,324 ^{***}	14,896 ^{***}	35,327 ^{***}
Génotypes (G)	8,961 ^{***}	0,436 ^{**}	14,045 ^{***}
Interaction (G x T)	0,041 ^{ns}	0,096 ^{ns}	3,307 ^{***}

ns : effet non significatif, * : effet significatif $p < 0,05$, ** : effet hautement significatif $p < 0,01$, *** : effet très hautement significatif $p < 0,001$.

D'après nos résultats, les deux osmoticum ont réduit davantage la croissance des parties aériennes comparativement à celle des parties racinaires. En notant également qu'un traitement de 20% de PEG-6000 a eu un plus grand impact. Des résultats comparables ont été rapportés chez le riz et chez le blé (Dubey et Singh, 1999 ; Almansouri et *al.*, 2001).

La réduction de la croissance aérienne observée au niveau des plantules peut s'expliquer par une augmentation des taux de certains régulateurs de croissance dans les cellules, notamment l'acide abscissique induit par le stress hydrique et la salinité (Daroui et *al.*, 2012 ; Marguerit, 2010). Il est établi que l'effet d'un stress salin et hydrique varie sensiblement en fonction de la sévérité du stress, de la durée d'exposition, du stade de développement et du génotype (Yokota et *al.*, 2006).

1.6. Réversibilité de l'action du stress

Nous avons constaté que de fortes doses de chlorure de sodium et de polyéthylène glycol-6000 (200mM et 20% respectivement) provoquent un effet dépressif sur la germination des graines des deux génotypes de blé dur étudiés. Cette inhibition peut être osmotique et/ou toxique.

Dans le cas où elle serait d'origine osmotique, on devrait s'attendre à une reprise de la germination après levée de cette contrainte. Par contre, si des phénomènes de toxicité ionique interviennent, on peut prévoir l'absence d'une reprise de germination (Hajlaoui et *al.*, 2007).

La remise en germination en présence d'eau distillée, des graines non germées à des concentrations de 20% de PEG et de 200mM de NaCl a été conduite afin de préciser l'origine de l'inhibition.

Concernant le lot de graines ayant initialement non germé en présence de 200 mM de sel ; le transfert des graines dans de l'eau distillée est suivi d'une reprise de la germination pour la variété Belioni ce qui n'est pas le cas pour la variété Waha. Ceci laisse supposer que cette même concentration est responsable de l'apparition de phénomènes toxiques et osmotiques chez la variété en question.

Pour ce qui est du lot de graines initialement non germé en présence de 20% de PEG-6000 ; le transfert dans de l'eau distillée est suivi d'une reprise de la germination pour les deux variétés de blé dur. Cependant, la capacité germinative reste plus faible que celle obtenue chez les graines mises directement sur le milieu témoin. De même que, le taux de germination après la reprise est toujours supérieur chez Belioni par comparaison à celui de Waha, quel que soit le type de contrainte (chlorure de sodium ou polyéthylène glycol).

La réversibilité de la réponse au sel a été démontrée dans les travaux de Alaoui et *al.*, (2013), sur six variétés de blé cultivé au Maroc. Selon Hajlaoui et *al.*, (2007), si des phénomènes de toxicité ionique interviennent, même en supprimant la contrainte imposée au départ, on peut prévoir l'absence d'une reprise de la germination. Ceci serait la résultante d'une accumulation des ions Na^+ et Cl^- .

2. Effet des stress salin et hydrique sur des caractères physiologiques et biochimiques

2.1 Evolution de la teneur en chlorophylle total (SPAD index, TCT)

Les variations de la teneur en chlorophylle totale des feuilles mesurée par SPAD (indice de la teneur en chlorophylle foliaire) sont présentées dans les figures 26 et 27. Il existe une relation étroite entre le taux de la chlorophylle et la nutrition azotée ce qui fait que le SPAD index est un excellent outil pour estimer l'azote foliaire.

L'analyse des résultats obtenus indique que les taux les plus élevés sont enregistrés chez les contrôles avec une valeur de 35,2 et 34,37 (unité SPAD) respectivement pour les génotypes Belioni et Waha (Figures 26 et 27).

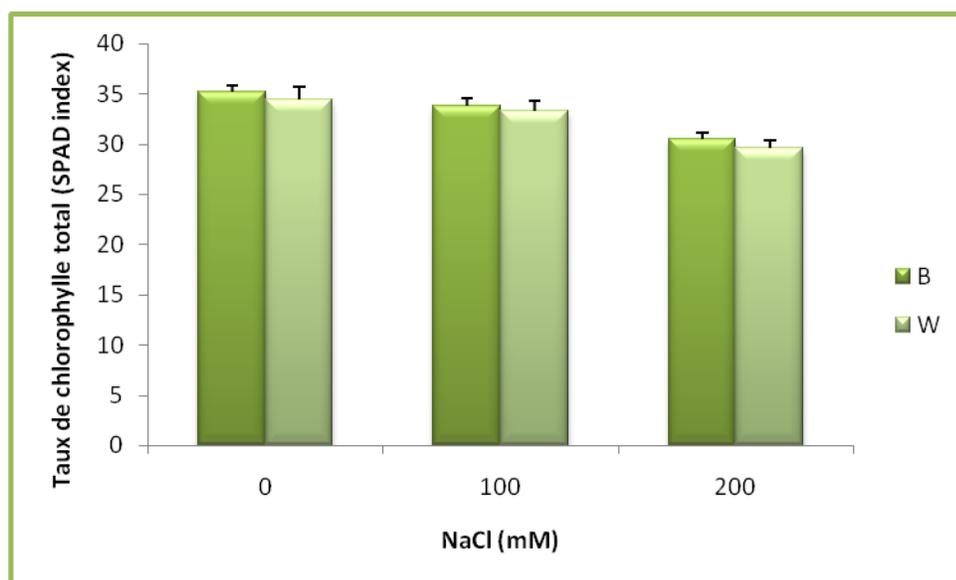


Figure 26 : Variation de la teneur en chlorophylle (SPAD index) sous différentes conditions de stress salin (NaCl à 0, 100 et 200 mM) chez les deux variétés de blé dur étudiées après une semaine d'exposition. Les valeurs constituent les moyennes \pm écarts types ($n=3$).

Par contre, après une semaine de stress à 100 mM de NaCl on observe une diminution de 4.17 % chez la variété Beliouni et de 3.3 % chez la variété Waha. Pour le traitement à 200 mM de NaCl, on remarque que le taux de diminution passe à 13.26 % et 13.87 % respectivement chez Beliouni et Waha.

En ce qui concerne le stress hydrique, les plantes stressées avec 10% de PEG-6000 pendant 7 jours montrent une diminution de 9.93% pour la variété Beliouni et de 8.92 % pour la variété Waha .Un effet qui est d'autant plus accentué à une concentration de 20% de PEG-6000 avec 17,23% et 17.85 % de réduction respectivement chez les deux variétés.

Ce qui indique que la teneur en chlorophylle exprimée en unités de SPAD diminue à la fois en fonction de l'intensité du stress et du génotype mais aussi en fonction de l'osmoticum utilisé (Figures. 26. et .27.).

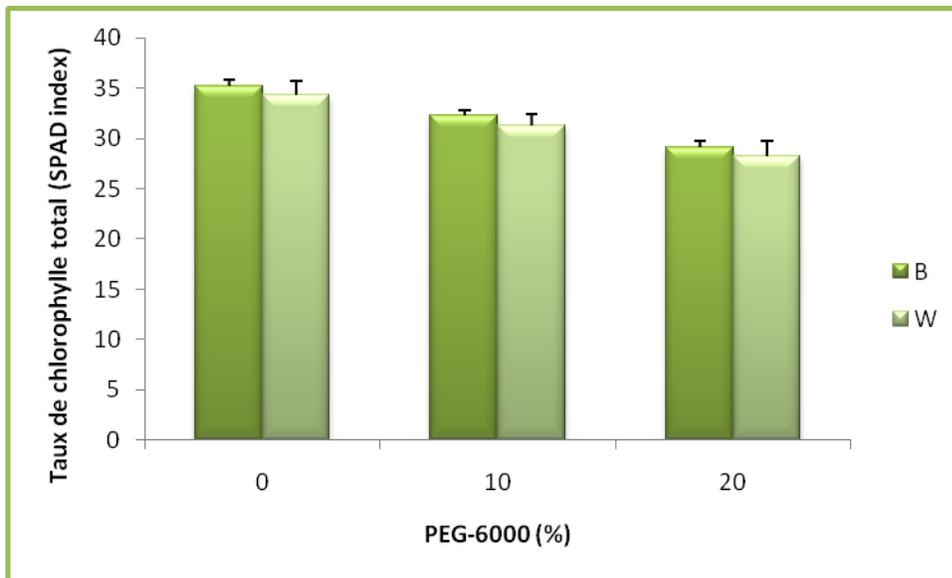


Figure 27 : Variation de la teneur en chlorophylle (SPAD index) sous différentes conditions de stress Hydrique (PEG-6000 à 0, 10% et 20%) chez les deux variétés de blé dur étudiées après une semaine d'exposition. Les valeurs constituent les moyennes \pm écarts types (n=3).

Ces données confrontées au test statistique à l'aide de l'analyse de la variance et la comparaison des moyennes, révèlent des différences très hautement significatives pour l'effet

traitement en présence de PEG-6000 et de NaCl. Par contre leur interaction ne l'est pas (Tableaux 7 et 8).

La teneur en chlorophylle des feuilles peut être influencée par beaucoup de facteurs tels que l'âge et la position des feuilles ainsi que par les facteurs environnementaux tels que la lumière, la température, la salinité et la disponibilité en eau (Hikosaka et *al.*, 2006). L'étude de l'effet des stress abiotiques sur la teneur en chlorophylle revêt une importance particulière du fait que l'activité photosynthétique est largement tributaire de la teneur en chlorophylle (Radhouane, 2006).

Levingneron et *al.*, (1995) rapportent que l'effet néfaste des stress abiotiques sur les teneurs en pigments chlorophylliens est partiellement à l'origine de la diminution de la synthèse des hydrates de carbone (Benderradji et *al.*, 2016). Une diminution qui peut s'expliquer par le fait que les stress hydrique et/ou salin réduisent l'assimilation de l'azote via le sol. L'azote étant un composant essentiel dans la formation de la chlorophylle, le stress va donc réduire la concentration des pigments chlorophylliens (Parwata et *al.*, 2012 ; Hajlaoui et *al.*, 2015).

Nos résultats concordent avec ceux de Benderradji et *al.*, (2016) qui ont attribué la chute des teneurs en chlorophylle en condition de stress salin à : la diminution de la surface foliaire, la fermeture des stomates et à la déficience de la fixation du gaz carbonique. Plusieurs études ont signalé des dommages au niveau des pigments des feuilles en conditions de déficit hydrique (Nyachiro et *al.*, 2001 ; Moaveni, 2011, Bousba et *al.*, 2013). Cela s'explique par la fermeture des stomates et le manque de CO₂, associés à une production accentuée des ROS (Mascher et *al.*, 2005). De cette façon, le déficit en eau peut conduire à une sur-réduction de la chaîne de transport des électrons photosynthétiques, entraînant des effets nuisibles tels que la photoinhibition et la photo-oxydation (Bouchemal, 2018).

2.2. Détermination de la teneur relative en eau (TRE, %)

La teneur relative en eau est considérée comme un excellent indicateur de l'état hydrique du végétal. Une signification physiologique qui permet de mettre en évidence l'état de la balance hydrique de la plante. Ce paramètre est souvent affecté par aussi bien par les contraintes hydriques que salines. Ce qui est conforme aux résultats obtenus dans notre expérimentation.

Au niveau des témoins, les deux variétés étudiées marquent les meilleures valeurs de TRE qui varient entre 100% chez la variété Beliouni et 98.67 % pour la variété Waha. Témoinnant ainsi d'une parfaite hydratation des cellules.

Sous l'effet de la salinité, pour le premier niveau de stress, en présence de 100 mM de NaCl, les valeurs de la TRE sont de 85.57 % chez le génotype Beliouni comme valeur maximale et une valeur minimale de 80 % enregistrée chez la variété Waha. Suite à l'application d'un stress sévère en présence de 200 mM de NaCl, les plantes stressées accusent une plus grande baisse par rapport aux plantes exposées à 100 mM de NaCl. La variété Beliouni marque une valeur maximale de 67.24 %, tandis que la variété Waha marque une valeur minimale de 60.15 % (Figure 28).

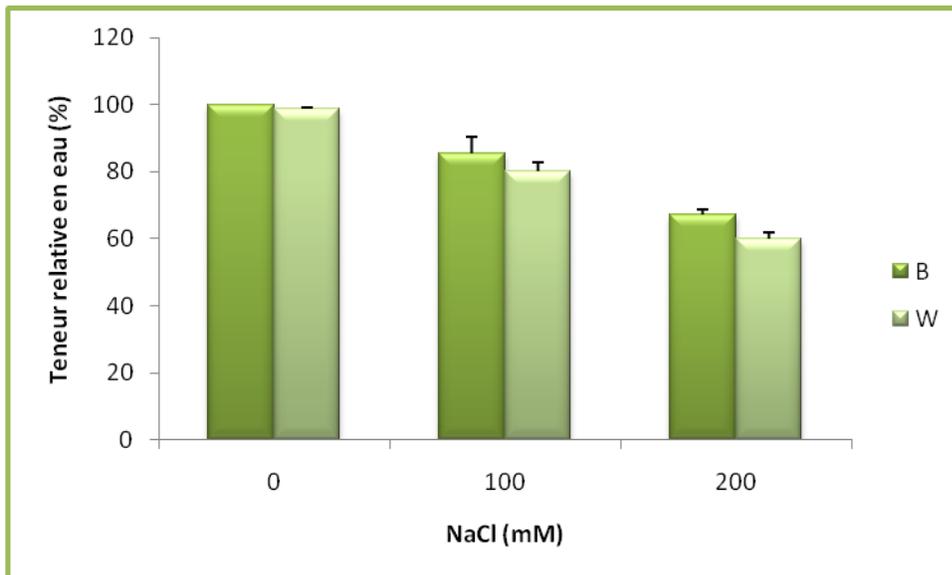


Figure 28 : Variation de la teneur relative en eau (TRE) sous différentes conditions de stress salin (NaCl à 0, 100 et 200 mM) chez les variétés de blé dur étudiées après une semaine d'exposition. Les valeurs constituent les moyennes \pm écarts types (n=3).

En présence de PEG-6000, pour le premier niveau de stress, qui correspond à une concentration de 10%, les valeurs de la TRE sont de 74 % chez le génotype Beliouni comme valeur maximale et une valeur minimale de 72,28 % enregistrée chez la variété Waha. En ce qui concerne le deuxième niveau de stress, qui correspond à une concentration de 20%, on remarque une diminution considérable de la TRE qui diffère d'une variété à l'autre, elle est de l'ordre de

57.24 % pour la variété Beliouni comme valeur maximale et de 50.24 % pour la variété Waha comme valeur minimale.

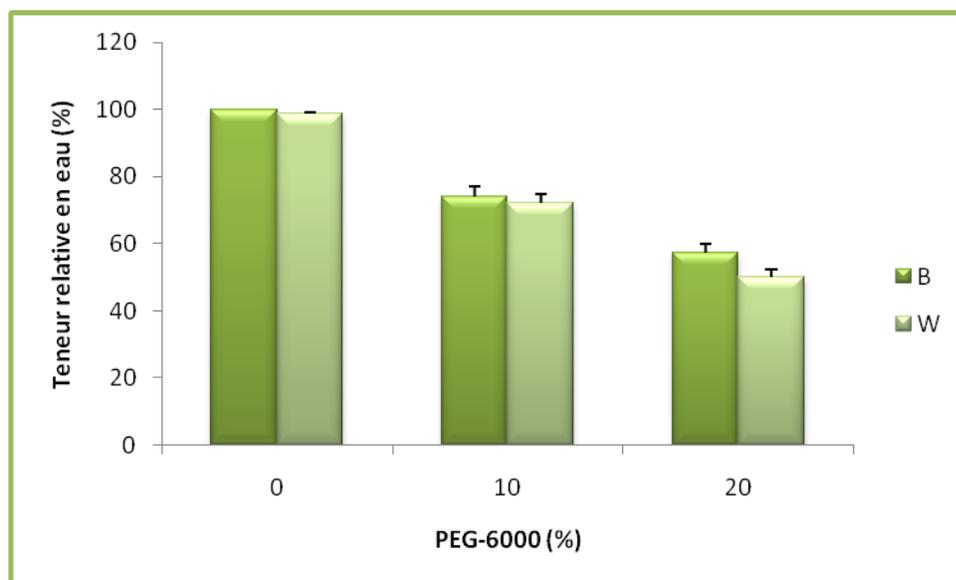


Figure 29 : Variation de la teneur relative en eau (TRE) sous différentes conditions de stress Hydrique (PEG-6000 à 0, 10% et 20%) chez les deux variétés de blé dur étudiées après une semaine d'exposition. Les valeurs constituent les moyennes \pm écarts types (n=3).

Les résultats sont vérifiés par l'analyse de la variance et la comparaison des moyennes de la TRE (Tableaux 7 et 8), qui fait ressortir des différences très hautement significatives pour l'effet traitement et génotype ($p < 0.001$) en présence des deux osmoticum. Pour l'interaction traitement x génotype elle est significative ($p < 0.05$).

Tableau 7 : Carrés moyens de l'analyse de variance de la teneur relative en eau (TRE) et du taux de chlorophylle (SPAD index) des deux variétés de blé dur testées à 0, 100 et 200 mM de NaCl.

Facteurs	Paramètres	
	TRE	SPAD index
Traitements (T)	1436,474 ^{***}	35,611 ^{***}
Génotypes (G)	107,409 ^{***}	2,569 ^{ns}
Interaction (G x T)	15,86 [*]	0,077 ^{ns}

ns : effet non significatif, * : effet significatif $p < 0,05$, ** : effet hautement significatif $p < 0,01$, *** : effet très hautement significatif $p < 0,001$.

Tableau 8 : Carrés moyens de l'analyse de variance de la teneur relative en eau (TRE) et du taux de chlorophylle (SPAD index) des deux variétés de blé dur testées à 0, 10 et 20% de PEG-6000.

Paramètres		
Facteurs	TRE	SPAD index
Traitements (T)	2473,136 ^{***}	55,820 ^{***}
Génotypes (G)	57,566 ^{***}	3,645 ^{ns}
Interaction (G x T)	15,86 [*]	0,007 ^{ns}

ns : effet non significatif, * : effet significatif $p < 0,05$, ** : effet hautement significatif $p < 0,01$, *** : effet très hautement significatif $p < 0,001$.

Parmi les éléments essentiels à la vie des végétaux, l'eau occupe une place de choix. Sans elle, toute forme de vie disparaît. L'état hydrique d'une plante peut être exprimé par sa teneur en eau (Clarck et Mac-Caig, 1982 ; Mehani et *al.*, 2012). De ce fait, la teneur relative en eau des feuilles est un critère d'évaluation de la tolérance aux stress abiotiques. Selon Sonclair et Ludlow, (1985) les variétés de blé qui ont une TRE importante sont les plus tolérantes aux stress abiotiques. Ce paramètre indique l'état de turgescence des tissus de la plante et sa capacité à maintenir un niveau d'hydratation à même de garantir la continuité de son métabolisme (Monneveux et *al.*, 1997 ; Melloul et *al.*, 2014).

De nombreux travaux mettent en évidence une diminution de la teneur relative en eau chez des variétés de blé dur soumises aux stress hydrique (Amoumen et Benhebireche, 2013) et salin (Khan et Balz, 2018).

Il est évident que les génotypes stressés exhibent 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 aptitude à contrôler les pertes en eau via les surfaces évaporatrices, ou à leur pouvoir d'ajustement osmotique servant au maintien de leur turgescence cellulaire et de leurs activités physiologiques (Bouakez et Hamadouche, 2015). Scofield et *al.*, (1988) notent que la diminution de ces teneurs en eau est plus rapide chez les variétés sensibles par comparaison avec les variétés résistantes.

Les stress salin ou hydrique vont induire des changements au niveau du statut hydrique. Ce processus conduit alors à : un dessèchement des feuilles, une diminution du contenu relatif en

eau suite à la perte de l'eau cellulaire, une réduction générale de la croissance et de la transpiration en plus d'une perturbation de l'homéostasie cellulaire (Ouhaddach *et al.*, 2015).

Certains auteurs (Achour *et al.*, 2015 ; Ouhaddach *et al.*, 2015), ont suggéré que le stress salin 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 compartimentation de la vacuole, L'accumulation de ces ions, serait le paramètre le plus impliqué dans le flétrissement et la mortalité de certaines espèces.

2.3. Evolution des teneurs en proline ($\mu\text{g}/100\text{mg MF}$)

Les fonctions métaboliques des plantes se trouvent souvent perturbées en conditions de stress salin et hydrique et notamment le métabolisme des acides aminés libres dont la proline constitue ; pour de nombreuses espèces l'élément principal de modification. Les quantités accumulées ont tendance à augmenter avec l'intensité des stress imposés.

Les résultats illustrés dans les histogrammes ci-dessous (Figures 30 et 31) indiquent que les teneurs en proline sont plus élevées chez la variété Beliouni par rapport à la variété Waha en conditions stressantes en particulier lorsque la concentration des agents de sélection (chlorure de sodium et polyéthylène glycol) est élevée.

En effet, en absence de stress on remarque des taux faibles de proline avec $6.76 \mu\text{g}/100\text{mgMF}$ et $7.78 \mu\text{g}/100\text{mgMF}$ respectivement chez Beliouni et Waha. Par contre sous une contrainte saline de 100 mM et après 7 jours de stress, on observe une hausse des teneurs en proline avec $14.66 \mu\text{g}/100\text{mgMF}$ et $13.49 \mu\text{g}/100\text{mgMF}$ respectivement chez les deux génotypes. Alors qu'un stress hydrique en présence de 10% de PEG-6000 a entraîné l'accumulation des teneurs suivantes : $16.63 \mu\text{g}/100\text{mgMF}$ et $14.96 \mu\text{g}/100\text{mgMF}$ respectivement chez Beliouni et Waha. Quant à la hausse la plus conséquente elle est observée en cas de stress sévère. En effet, en présence de 200mM de NaCl les valeurs passent à $30.75 \mu\text{g}/100\text{mgMF}$ chez Beliouni et à $21.04 \mu\text{g}/100\text{mgMF}$ chez Waha. Pour ce qui est du traitement de 20% de PEG-6000 elles sont de $34.21 \mu\text{g}/100\text{mgMF}$ chez Beliouni et de $25.13 \mu\text{g}/100\text{mgMF}$ chez Waha.

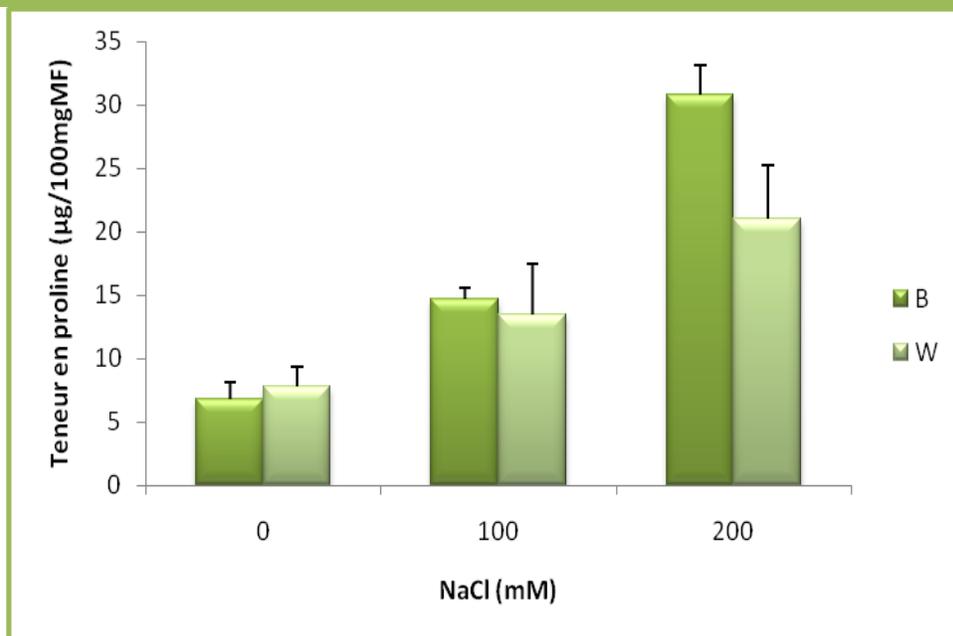


Figure 30 : Variation de la teneur en prolines sous différentes conditions de stress salin (NaCl à 0, 100 et 200 mM) chez les deux variétés de blé dur étudiées après une semaine d'exposition. Les valeurs constituent les moyennes \pm écarts types (n=3).

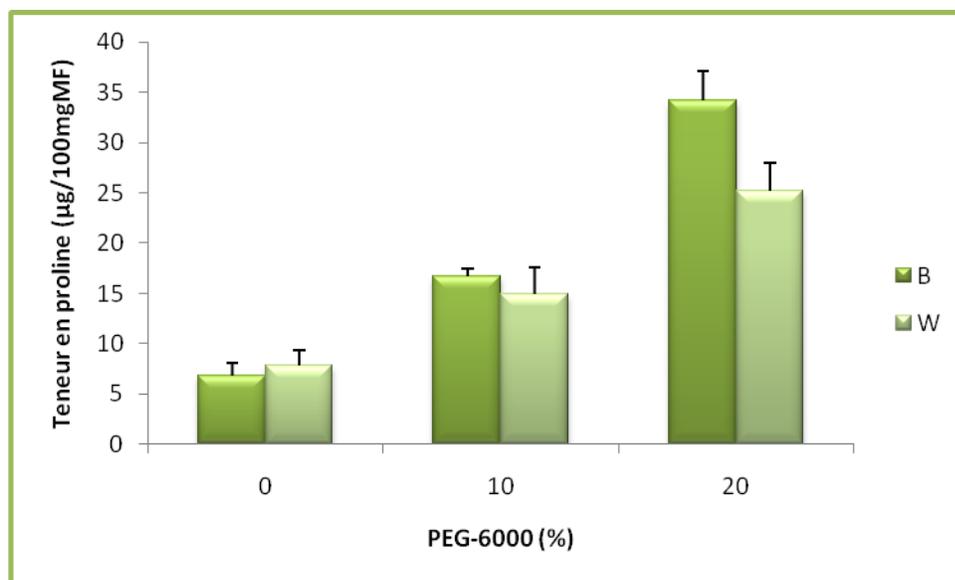


Figure 31 : Variation de la teneur en prolines sous différentes conditions de stress hydrique (PEG-6000 à 0, 10% et 20%) chez les deux variétés de blé dur étudiées après une semaine d'exposition. Les valeurs constituent les moyennes \pm écarts types (n=3).

D'après l'analyse de la variance effectuée sur les deux facteurs (traitement, génotype) et d'après l'analyse de leur interaction on constate l'existence d'un effet traitement très hautement significatif ainsi qu'un effet génotype et un effet interaction significative sous conditions de stress salin (NaCl). Pour le stress hydrique (PEG-6000) l'effet génotype et l'effet interaction est hautement significatif. Quant à l'effet traitement il s'est révélé très hautement significatif (Tableau 9 et 10).

La proline est considérée comme un "élément osmorégulateur" dont l'accumulation semble être un indice de résistance non seulement au stress salin mais également au stress hydrique (Djahra et *al.*, 2015). Cette aptitude varie d'ailleurs d'une espèce à l'autre et selon la nature et l'intensité du stress rencontré (Delauney et Verma, 1993). Selon Wilfred (2005), la capacité d'accumulation de la proline chez les plantes est un facteur variétal, permettant de garder la turgescence et le volume cytosolique aussi élevé que possible.

Cet acide aminé induit en conditions limitantes, peut être le résultat de trois processus complémentaires : stimulation de sa synthèse, inhibition de son oxydation et/ou altération de la biosynthèse des protéines (Tahri et *al.*, 1988).

Le rôle de la proline dans la résistance au stress salin n'est pas encore élucidé. Il peut agir comme un osmoticum dont l'accumulation cytoplasmique permet de neutraliser les effets ioniques et osmotiques de la compartimentation du sel dans la vacuole. Selon un autre point de vue, ce phénomène n'est pas une réaction d'adaptation au stress, mais plutôt le signe d'une perturbation métabolique (Nasri, 2014). Globalement, l'augmentation des teneurs de la proline a été démontrée chez de nombreuses espèces et notamment le blé dans différentes situations de salinité et/ou de sécheresse (Denden et *al.*, 2005 ; Brahimi, 2017 ; Nouri 2002). Et la présence de ce soluté compatible est souvent corrélée avec la capacité des plantes à survivre en condition de stress.

2.4. Evolution des teneurs en sucres solubles ($\mu\text{g}/100\text{mg MF}$)

Le dosage des sucres totaux, extraits à partir des feuilles des deux variétés étudiées, a montré que la quantité de sucres accumulés augmente avec la concentration des agents de stress (Figures 32 et 33).

Sous conditions contrôle, les valeurs rapportées tournent aux alentours de 8.5 $\mu\text{g}/100\text{mgMF}$ pour la variété Beliouni et de 10.06 $\mu\text{g}/100\text{mgMF}$ pour la variété Waha.

Pour une concentration de 100mM de NaCl et après une semaine de stress, les valeurs signalées sont plus élevées par rapport aux témoins, avec 18.9 $\mu\text{g}/100\text{mg MF}$ pour la variété Beliouni et 16.35 $\mu\text{g}/100\text{mg MF}$ pour la variété Waha. Un stress salin plus marqué avec une concentration de 200 mM de NaCl, amplifie davantage l'accumulation des sucres dans les tissus foliaires dont les valeurs enregistrées sont de l'ordre de 36.97 $\mu\text{g}/100\text{mg MF}$ chez la variété Beliouni soit une augmentation de 77.01 % par rapport au témoin et de 28.55 $\mu\text{g}/100\text{mg MF}$ chez la variété Waha soit une augmentation de 64.76 %.

L'application d'un stress de 7 jours, en présence de 10% de PEG-6000 entraine l'accumulation des teneurs suivantes : 22.43 $\mu\text{g}/100\text{mg MF}$ et 14.38 $\mu\text{g}/100\text{mg MF}$ respectivement chez les génotypes Beliouni et Waha. De même que pour le précédent osmoticum l'application d'un traitement de 20 % de PEG-6000, produit un effet d'autant plus accentué avec chez la variété Beliouni une valeur maximale de l'ordre de 47.5 $\mu\text{g}/100\text{mg MF}$ soit une augmentation de 82.11%. Tandis que la valeur minimale est notée chez la variété Waha avec 29.15 $\mu\text{g}/100\text{mg MF}$ soit un taux d'augmentation est de 65.49 % par rapport au témoin..

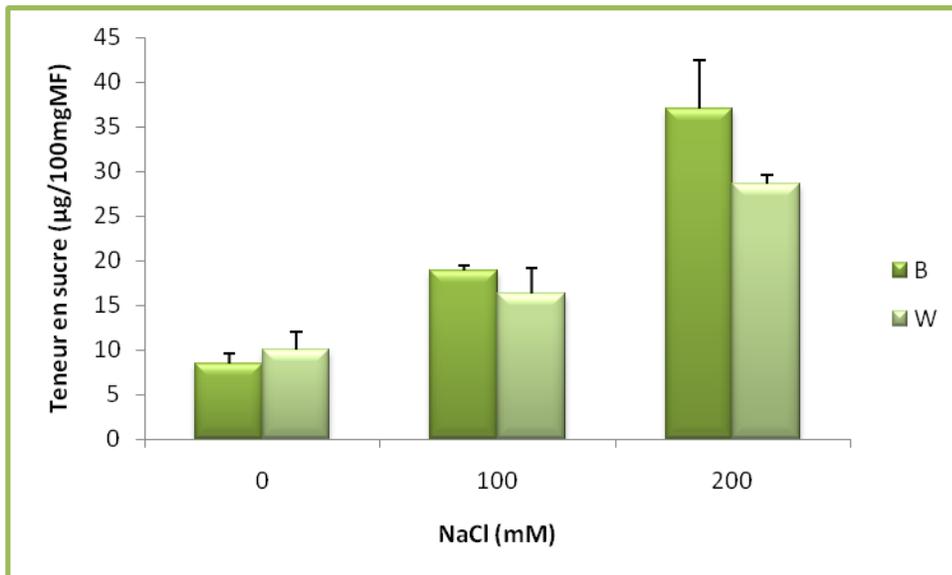


Figure 32 : Variation de la teneur en sucres solubles sous différentes conditions de stress salin (NaCl à 0, 100 et 200 mM) chez les deux variétés de blé dur étudiées après une semaine d'exposition. Les valeurs constituent les moyennes \pm écarts types (n=3).

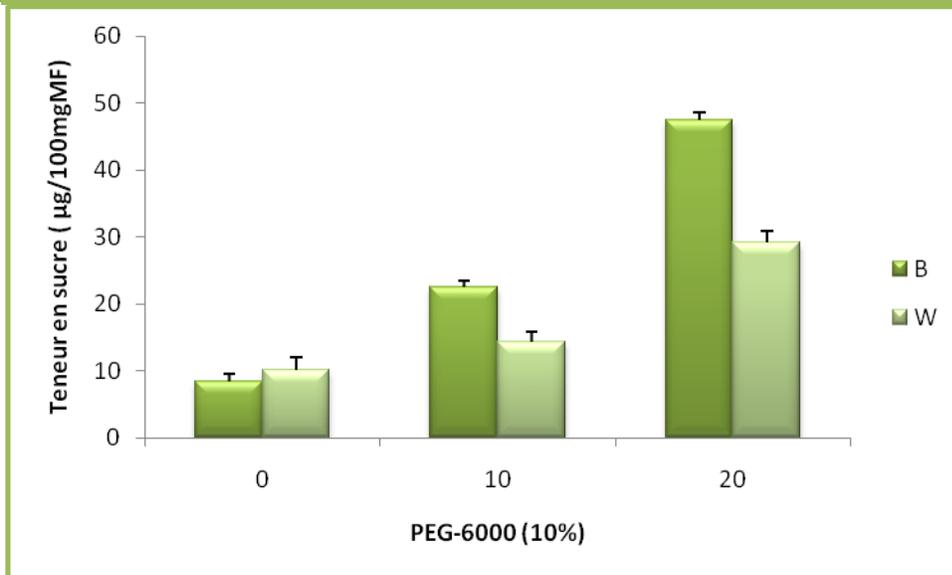


Figure 33 : Variation de la teneur en sucres solubles sous différentes conditions de stress hydrique (PEG-6000 à 0, 10% et 20%) chez les deux variétés de blé dur étudiées après une semaine d'exposition. Les valeurs constituent les moyennes \pm écarts types (n=3).

L'analyse de la variance à deux critères de classification montre que ce paramètre diffère de manière très hautement significativement ($P < 0,001$) pour les deux facteurs ainsi que pour leur interaction en présence de PEG-6000 (Tableaux 9 et 10) entre les deux variétés étudiées. Pour le traitement au NaCl, l'analyse révèle un effet traitement très hautement significatif ainsi qu'un effet génotype et interaction génotype x traitement significative.

Tableau 9 : Carrés moyens de l'analyse de variance de la teneur en proline (Pro) et en sucres solubles (Suc) des deux variétés de blé dur testées à 0, 100 et 200 mM de NaCl.

Facteurs	Paramètres	
	Suc	Pro
Traitements (T)	849,738 ^{***}	532,996 ^{***}
Génotypes (G)	44,243 [*]	48,511 [*]
Interaction (G x T)	37,740 [*]	48,194 [*]

ns : effet non significatif, * : effet significatif $p < 0,05$, ** : effet hautement significatif $p < 0,01$, *** : effet très hautement significatif $p < 0,001$.

Tableau 10 : Carrés moyens de l'analyse de variance de la teneur en proline (Pro) et en sucres solubles (Suc) des deux variétés de blé dur testées à 0, 10 et 20% de PEG-6000.

Facteurs	Paramètres	
	Suc	Pro
Génotypes (G)	1323,756 ^{***}	767,296 ^{***}
Traitement (T)	308,678 ^{***}	47,304 ^{**}
Interaction (G x T)	148,813 ^{***}	41,087 ^{**}

ns : effet non significatif, * : effet significatif $p < 0,05$, ** : effet hautement significatif $p < 0,01$, *** : effet très hautement significatif $p < 0,001$.

L'accumulation des sucres solubles est un moyen adopté par les plantes en cas de stress, afin de résister aux contraintes du milieu (Tahri *et al.*, 1997 ; Benderradji *et al.*, 2016). Cela permet de constituer une garantie pour le maintien d'une intégrité cellulaire élevée (Mefti *et al.*, 1998). En effet, ces solutés compatibles sont considérés par plusieurs auteurs comme de bons osmorégulateurs qui peuvent jouer un rôle important dans l'ajustement osmotique et l'adaptation des plantes à la sécheresse et à la salinité (Slama, 2002 ; Munns *et al.*, 2006). Ils permettent aussi la protection des biomembranes contre la déshydratation (Hireche, 2006).

L'augmentation des teneurs en sucres solubles, a été démontrée chez de nombreuses variétés de blé tendre et/ou dur dans différentes situations de stress salin et/ou hydrique (Slama, 2002 ; Benkadour, 2014 ; Benderradji *et al.*, 2016 ; Brahim, 2017).

2.5. Profils électrophorétiques des protéines totales

Pour mieux comprendre les bases moléculaires de la protéomique de la tolérance au stress abiotique, l'analyse des protéines totales des feuilles des deux génotypes de blé dur testés par la technique d'électrophorèse (SDS-PAGE) a été réalisée ; en ayant pour but l'identification des profils d'expression des protéines impliquées dans la réponse aux traitements appliqués. Des différences notables pour le nombre de bandes révélées en termes de nombre, de présence et d'absence de bandes, mais aussi par rapport au poids moléculaire sont observées (Figures 34 et 35 ; Tableaux 11, 12 et 13).

L'analyse des gels obtenus révèle la présence de 78 bandes polypeptidiques avec des poids moléculaires allant de 16.80 KDa jusqu'à 95.70 KDa (Tableau 13).

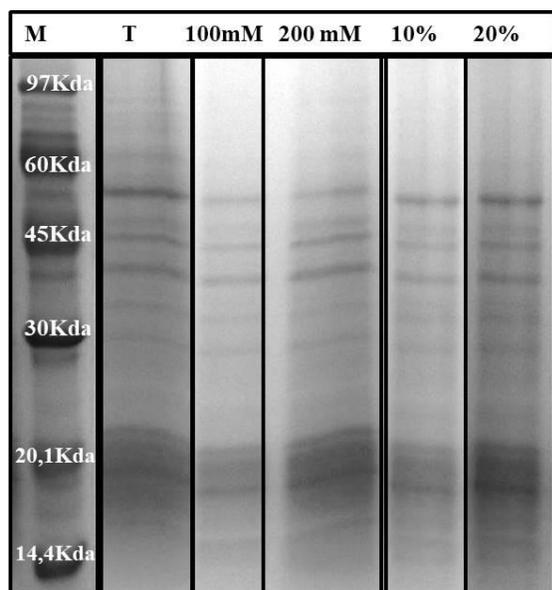


Figure 34 : Profil électrophorétique SDS-PAGE des protéines totales extraites à partir des feuilles de la variété Beliouni soumise un stress salin et hydrique (M = Marqueur de taille (poids moléculaire en KDa), T = Beliouni témoin).

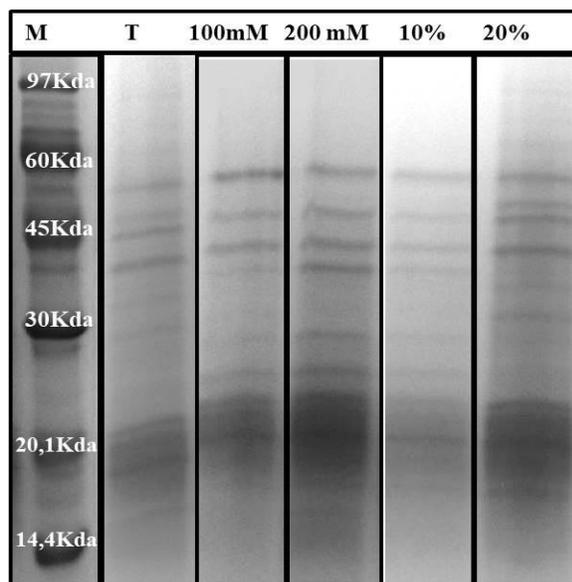


Figure 35 : Profil électrophorétique SDS-PAGE des protéines totales extraites à partir des feuilles de la variété Waha soumise un stress salin et hydrique (M = Marqueur de taille (poids moléculaire en KDa), T = Waha témoin).

On constate la présence pour les témoins de 14 bandes observées chez la variété Belioni dont les tailles varient entre 17.45 KDa et 75.02 KDa. Pour les témoins de la variété Waha 12 bandes sont observées dont les tailles varient entre 17.36 KDa et 93.50 KDa (Tableau 13).

En présence de 100 mM de sel, 11 bandes protéiques sont apparues pour la variété Belioni dont le poids moléculaire est de : 18.60, 22.70, 26.37, 39.52, 41.50, 45.88, 47.16, 51.58, 52.24, 59.10, 62.56KDa. Tandis que pour la variété Waha on retrouve 9 bandes de : 18.60, 20.80, 28.20, 32.43, 41.50, 45, 47.16, 56, 59.10 KDa (Tableau 13).

Pour le même traitement, mais pour une concentration de 200 mM, les 12 bandes protéiques révélées chez la variété Belioni sont de : 21.36, 23.75, 25.50, 28.70, 32.69, 39.90, 41.50, 45, 47.16, 51.58, 52.24, 59.10 KDa, mais 12 bandes sont détectées chez la variété Waha : 16.80, 21.36, 30, 40.24, 41.50, 47.16, 50, 51.58, 57.70, 59.10, 69.75, 93.90 KDa (Tableau 13).

Suite à une exposition à un stress modéré en présence de 10% de PEG-6000, les 11 bandes protéiques révélées chez la variété Belioni sont de : 21.19, 22.86, 25.29, 29.30, 39.31, 41.50, 44.40, 47.16, 51.58, 59.10, 60.70 KDa, mais les 11 bandes qui sont détectées chez la variété Waha : 18.85, 20.80, 29, 33.25, 39.31, 41.50, 47.16, 51.58, 55.60, 59.10, 65.60 KDa (Tableau 13).

Sous l'effet de 20% de PEG, on note l'accumulation de 15 bandes protéiques chez Belioni : 17.36, 18, 22.70, 32.69, 37.56, 41.50, 42.55, 47.16, 50.30, 51.58, 54.83, 59.10, 60, 70.80, 95.70 KDa. Mais seulement 13 bandes protéiques ont été révélées chez Waha: 18, 22.70, 24.60, 33.25, 41.50, 47.16, 48.40, 51.58, 52.24, 59.10, 59.35, 68.34, 80.20 KDa (Tableau 13).

On constate dans cette étude que les protéines qui ont les poids moléculaires de 41.50, 47.16, 59.10 kDa sont toujours présentes chez les deux variétés quelque soit le stress appliqué (Tableau 13).

Les stress abiotiques peuvent causer de profondes altérations du métabolisme cellulaire (Iskandar et al, 2011) et la réaction des plantes à ces situations défavorables va se traduire notamment par une synthèse rapide de polypeptides. Plusieurs modifications dans le profil protéique (l'inhibition, la surexpression ou encore l'apparition de nouvelles protéines) interviennent suite à une exposition à la sécheresse et à la salinité. Une partie des protéines

induites exercent une fonction directe dans l'augmentation de la tolérance au stress (Schulze et *al.*, 2005). En effet, selon Hamdia et *al.*, (2004), l'analyse des profils de deux cultivars de maïs un tolérant et l'autre sensible à la salinité, a montré un accroissement des protéines totales solubles chez le premier par contre chez le second c'est l'effet inverse qui ce produit. Selon Zerrad et *al.*, (2008) l'évolution des teneurs en protéines totales, extraites à partir des coléoptiles et des racines de deux variétés de blé dur marocaine a montré une corrélation positive entre la sévérité du stress hydrique et le niveau de protéines totales produites.

Farshadfar et *al.*, (2008), suggèrent qu'une telle hausse pourrait être due à une activation d'un ensemble de gènes permettant la synthèse de protéines spécifiquement associées aux stress. Parmi-elles, les protéines «LEA» qui assurent une protection de l'ensemble vital des protéines cellulaires (David et Grongnet, 2001), et les protéines de choc thermique qui permettent un maintien des structures protéiques et membranaires de la cellule végétale (Baker et *al.*, 1988). D'autres protéines auront plutôt une fonction dans la chaîne de transduction (protéines régulatrices) qui aboutiront au final à la production de protéines fonctionnelles (Temagoult, 2009).

Concernant l'intensité des bandes et conformément à De Rodriguez et *al.*, (2002), cette dernière est directement liée à la concentration en protéines. Parmi les protéines détectées, quelques-unes sont couramment décelées, alors que d'autres varient entre les génotypes en fonction des conditions stressantes.

Tableau 11 : Récapitulatif du nombre de bandes révélées par électrophorèse SDS-PAGE de la variété Belioni sous conditions normale et stressante.

Traitements	Nombre de bandes	Nombre de bandes totales
Témoin	14	63
100 mM	11	
200 mM	12	
10 %	11	
20 %	15	

Tableau 12 : Récapitulatif du nombre de bandes révélées par électrophorèse SDS-PAGE de la variété Waha sous conditions normale et stressante.

Traitements	Nombre de bandes	Nombre de bandes totales
Témoin	12	57
100 mM	09	
200 mM	12	
10 %	11	
20 %	13	

Tableau 13 : Diagramme présence/absence des bandes dans les feuilles des deux géotypes de blé dur étudiés en condition contrôle (T : témoin) en présence de NaCl (1 : 100 mM, 2 : 200 mM) et en présence de PEG-6000 (3 : 10%, 4 : 20%). (1 pour présence, 0 pour absence).

	PM(Kda)	WT	W1	W2	W3	W4	BT	B1	B2	B3	B4
1	14.95	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	15.93	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	16.80	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
4	17.36	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1
5	17.45	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
6	18.00	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
7	18.60	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0
8	18.85	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
9	20.00	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
10	20.45	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11	20.80	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
12	21.05	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
13	21.19	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
14	21.36	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0
15	22.45	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	22.70	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1
17	22.86	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0
18	24.60	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
19	23.75	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
20	23.30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

21	25.29	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
22	25.50	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
23	26.37	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
24	27.80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
25	28.20	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
26	28.70	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
27	29.00	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
28	29.30	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0
29	30.00	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
30	30.31	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
31	31.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
32	31.40	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
33	32.43	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
34	32.69	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
35	33.25	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
36	33.35	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
37	35.50	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
38	37.56	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
39	38.40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
40	39.31	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0
41	39.52	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
42	39.90	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
43	40.24	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
44	41.50	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
45	42.44	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
46	42.55	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
47	42.68	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
48	44.40	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
49	45.00	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0
50	45.88	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
51	46.90	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
52	47.16	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
53	48.40	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
54	50.00	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
55	50.30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
56	51.58	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1
57	52.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
85	52.24	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0
59	54.83	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
60	55.60	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0

61	56.00	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
62	56.69	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
63	57.70	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
64	59.10	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
65	59.35	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
66	60.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
67	60.70	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
68	62.56	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
69	65.60	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
70	68.34	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0
71	69.75	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
72	70.80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
73	75.02	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
74	75.70	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
75	80.20	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
76	93.50	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
77	93.90	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
78	95.70	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1

Conclusion

Les stress abiotiques affectent le développement et le bon fonctionnement des plantes. Ces dernières disposent tout de même de mécanismes d'adaptation leur permettant de supporter ces contraintes environnementales. Les principaux mécanismes de la tolérance mis en place sont la résultante de plusieurs actions initiée par l'expression de différents gènes et conduisant à une réponse coordonnée.

Dans le cadre de ce travail nous avons eu comme objectif d'évaluer et de comparer le comportement de deux variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.), Beliouni et Waha soumises à différentes concentrations de NaCl (100mM et 200mM) et de PEG-6000 (10% et 20%). Ceci en se basant, tout d'abord, sur des paramètres de germinations, puis sur des paramètres physiologiques et biochimiques relevés au stade troisième feuille.

L'étude de la réponse aux stress salin et hydrique chez les deux variétés testées révèle que les deux contraintes affectent l'ensemble des paramètres mesurés. Selon l'analyse des variables étudiées, Beliouni semble être capable de tolérer des concentrations de NaCl et de PEG-6000 allant jusqu'à 200 mM et 20% respectivement ; avec un taux de germination finale de 81.25 % et de 68.75 %. Ainsi qu'un indice de tolérance plus élevé. Cette concentration peut constituer une limite de tolérance et un critère de sélection. Des concentrations élevées de sel (NaCl) et de polyéthylène glycol agissent aussi de manière négative sur la germination moyenne journalière, la cinétique de germination, la longueur racinaire, le nombre de racines et la longueur des épicotyles. La partie aérienne semble être plus touchée par les deux osmoticums que la partie racinaire, même si l'utilisation d'une concentration de 20% de PEG-6000 a eu un impact plus marqué sur les variables précédemment mentionnées.

L'étude physiologique et biochimique montre que, les traitements précédemment mentionnés appliqués au stade troisième feuille ont provoqué une réduction de la teneur relative en eau et de la teneur en chlorophylle (SPAD index). Accompagnées d'une hausse de la teneur en proline et en sucres solubles à des taux variables entre traitements, génotypes mais toujours de manière plus importante pour la concentration de 20% de PEG-6000.

De plus l'analyse des gels obtenus a permis la mise en évidence de différences notables dans le nombre et l'intensité des bandes révélées, mais aussi concernant le poids moléculaire. Au total 78 bandes différentes d'un poids moléculaire allant de 16.80 KDa à 95.70 KDa ont été observées, tous traitements confondus. Certaines d'entre elles sont observées aussi bien chez les témoins que chez les stressés, d'autres sont au contraire réprimées tandis de nouvelles sont induites.

Conclusion

En conclusion, l'étude a montré que les deux variétés étudiées ont utilisé des stratégies de tolérance assez similaires mais la différence qui existe se situe au niveau des taux de synthèse des marqueurs biochimiques étudiés.

Perspectives

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

- Cette étude devrait être complétée par des expérimentations similaires sur le champ afin de vérifier le degré de tolérance des variétés étudiées en conditions réelles.
- Elargir l'étude en comparant plus de variétés de blé dur.
- Viser l'aspect moléculaire de la tolérance au stress salin et hydrique, en réalisant une électrophorèse bidimensionnelle des protéines induites chez les plantes stressées. Ou encore en réalisant une PCR quantitative de quelques gènes impliqués dans les mécanismes de biosynthèse des osmolytes ou des gènes codants pour des protéines impliquées dans la protection des structures cellulaires chez le blé dur.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Abis, S.** (2012). Le blé en méditerranée. Sociétés, commerce et stratégies. Economie et territoire/rerelations commerciales, 241-247.
- Achour, A., Bidai, Y., & Belkhodja, M.** (2015). L'impact de la salinité sur le comportement hydrique et métabolique d'une variété de Gombo (*Abelmoschus esculentus L.*). International Journal of Innovation and Applied Studies, 12(4), 943.
- Ahmad, I. Z.** (2019). Role of Sugars in Abiotic Stress Signaling in Plants. In Plant Signaling Molecules (pp. 207-217). Woodhead Publishing.
- Aidani, H.** (2015). Effet des attaques de Capucin des grains (*Rhizopertha dominica*) sur les céréales stockées. « Estimation sur la perte pondérale et le pouvoir germinatif Cas de blé dur dans la région de Tlemcen ». Mémoire de Master en Agronomie. Université des Frères Mentouri Abou Bekr Belkaid Tlemcen. 4p.
- Alaoui, M. M., El Jourmi, L., Ouarzane, A., Lazar, S., El Antri, S., Zahouily, M., & Hmyene, A.** (2013). Effet du stress salin sur la germination et la croissance de six variétés marocaines de blé. J. Mater. Environ. Sci, 4(6), 997-1004.
- Alem, C., & Amri, A.** (2005). Importance de la stabilité membranes cellulaires dans la tolérance à la salinité chez l'orge, biochimie et environnement, Reviews In Biology and Biotechnology, vol 4, N°1 :20-31
- Alem, C., Labhilili, M., Brahmi, K., Jlibene, M., Nasrallah, N., & Filali-Maltouf, A.** (2002). Adaptations hydrique et photosynthétique du blé dur et du blé tendre au stress salin. Comptes rendus biologiques, 325(11), 1097-1109
- Allen, R. D.** (1995). Dissection of oxidative stress tolerance using transgenic plants. Plant physiology, 107(4), 1049.
- Almansouri, M., Kinet, J. M., & Lutts, S. (2001). Effect of salt and osmotic stresses on germination in durum wheat (*Triticum durum Desf.*). Plant and soil, 231(2), 243-254.
- Amoumen, S., & Benheburhe, N.** (2013). Contribution à l'étude de la tolérance au déficit hydrique du blé dur (*Triticum durum Desf.*). Mémoire de master en Biologie. Université Kasdi Merbah Ouargla. 23p.
- Amouri, A.A., & Fyad Lameche, F. Z.** (2012). Analyse comparative de la tolérance à la salinité du gaméophyte mâle et du sporophyte chez *Medicago* au stade germination.
- Amouri, A.A., Fyad Lameche, F.Z., & Karkachi, N.** (2015). Variabilité de la tolérance au stress salin chez deux génotypes contrastés d'une légumineuse *Medicago truncatula* au stade germination. Algerian journal of arid environment, 5(2), 17-25.
- Amrouche, I., & Mesbah-El, K.A.** (2017). Effet du stress abiotique sur l'accumulation des protéines totales chez deux variétés de blé dur (*Triticum durum Desf.*). Mémoire de Master en Biologie et Génomique Végétale. Université des Frères Mentouri Constantine. 25p.
- Anger, J. P., & Kintz, P. (2010). Les OGM: une révolution technologique qui inquiète et qui passionne. In *Annales de Toxicologie Analytique* (Vol. 22, No. 1, pp. 19-26). EDP Sciences.
- Anjum, S. A., Xie, X. Y., Wang, L. C., Saleem, M. F., Man, C., & Lei, W.** (2011). Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. African Journal of Agricultural Research, 6(9), 2026-2032.
- Arbaoui, M.** (2016). Effets du stress salin sur des plantules de tomate (*Lycopersicon esculentum Mill.*) cultivées sur substrat sableux amendé en bentonite. Thèse de Doctorat. Université Ahmed Ben Bella Oran. 35p.
- Aswani, V., Rajsheel, P., Bapatla, R. B., Sunil, B., & Raghavendra, A. S.** (2019). Oxidative stress induced in chloroplasts or mitochondria promotes proline accumulation in leaves of pea (*Pisum sativum*): another example of chloroplast-mitochondria interactions. Protoplasma, 256(2), 449-457.
- Barrs, H.** (1968). Determination of water deficit in plant tissues. In Kozlowski, T.T. (Ed.), Water deficit and plant growth (Vol. 1, pp. 235-863). New York: Academic press.

Références bibliographiques

- Bartels, D., & Sunkar, R.** (2005). Drought and salt tolerance in plants. Critical reviews in plant sciences, 24(1), 23-58.
- Bartels, D., & Sunkar, R.** (2005). Drought and salt tolerance in plants. Critical reviews in plant sciences, 24(1), 23-58.
- Beck, E., & Ziegler, P.** (1989). Biosynthesis and degradation of starch in higher plants. Annual review of plant biology, 40(1), 95-117.
- Belfakih, M., Ibriz, M., & Zouahri, A.** (2013). Effet de la salinité sur les paramètres morphophysologiques de deux variétés de bananier (*Musa acuminata L.*). Journal of Applied Biosciences, 70(1), 5652-5662.
- Ben Miled, D., Boussaid, M., Abdelkefi, A., & Cherif, A.** (1986). Tolérance au sel d'espèces annuelles du genre *Medicago* au cours de la germination. Séminaire international sur les végétaux en milieu aride, 8 au 10 septembre, Jerba, Tunisie.
- Ben Yahmed, J.** (2013). Thèse de doctorat. Centre international d'études supérieures en sciences agronomiques Montpellier. 25p.
- Benabdelkader, & Y.M., Nouar, A.** (2018). Caractérisation moléculaire de quelques variétés algériennes de blé dur (*Triticum durum Desf.*) par les microsatellites. Mémoire de Master en Biotechnologie et Génomique Végétale. Université des Frères Mentouri Constantine. 1p.
- Benderradji, L.** (2013). Sélection in vitro pour la tolérance aux stress salin et thermique chez le blé tendre (*Triticum aestivum L.*). Thèse de Doctorat. Université des Frères Mentouri Constantine. 20-29-32-33-41-67p
- Benderradji, L., Hadji, N., Kellou, K., Benniou, R., & Brini F.** (2016). Effet du NaCl et PEG 6000 sur le comportement morpho-physiologique et biochimique des variétés de blé dur et tendre cultivées in vitro en milieu hydroponique. Revue Agriculture. Numéro spécial 1, 278-286.
- Benkaddour, M.** (2014). Modifications physiologiques chez des plantes de blé (*Triticum durum Desf*) exposées à un stress salin. Thèse de Doctorat. Université Badji Mokhtar Annaba. 30p.
- Benkhellef, I.** (2016). Stratégies génomiques pour une meilleure tolérance au stress hydrique chez le blé dur (*Triticum durum Desf.*). Mémoire de Master en Biologie et Génomique Végétale. Université des Frères Mentouri Constantine. 6p.
- 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 de licence en sciences commerciales: Institut national de commerce Alger. 95p.
- Benseddik, B., & Benabdelli K.** (2000). Impact du risque climatique sur le rendement du blé dur en zone semi-aride. Approche éco-physiologique, Sécheresse, Vol. 11, N° 1, (2000), pp. 45-51.
- Bhandal, I. S., & Malik, C. P.** (1988). Potassium estimation, uptake, and its role in the physiology and metabolism of flowering plants. In International Review of Cytology (Vol. 110, pp. 205-254). Academic Press.
- Bliss, R. D., Platt-Aloia, K. A., & Thomson, W. W.** (1986). Osmotic sensitivity in relation to salt sensitivity in germinating barley seeds. Plant, Cell & Environment, 9(9), 721-725.
- Bouakez, D., & Hamadouche I.** (2015). Effet du stress hydrique au stade de germination sur la croissance de quelque génotype du blé dur (*Triticum durum Desf.*). Mémoire de Master en Biologie et Génomique Végétale. Université des Frères Mentouri Constantine. 5p.
- Bouchemel, k.** (2018). Etude des enzymes du stress oxydatif chez le blé dur (*Triticum durum Desf.*) : caractérisation biochimique et moléculaire. Thèse de doctorat. Université des Frères Mentouri Constantine. 49p.
- Boufenar-Zaghouane, F., & Zaghouane, O.** (2006). Guide des principales variétés de céréales à paille en Algérie (blé dur, blé tendre, orge et avoine). ITGC P, 154.

Références bibliographiques

- Boulal, H., Zaghouane, O., El Mourid, M., & Rezgui, S.** (2007). Guide pratique de la conduite des céréales d'automne (blé et orge) dans le Maghreb (Algérie, Maroc, Tunisie). ITGC, INRA, ICARDA. Algérie.176p.
- Boumaaza, B.** (2011). Effets de la salinité sur le comportement Eco physiologique et biochimiques d'une culture de pois chiche (*Cicer arietinum.L*) au stade juvénile. Mémoire de Magistère. Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen. 12-13p.
- Boumana, M.** (2017). Applications des marqueurs moléculaires dans l'amélioration du blé dur pour la tolérance au stress biotique et abiotique. Mémoire de Master en Biologie et Génomique Végétale. Université des Frères Mentouri Constantine. 21p.
- Bourihane, D., & Mekkaoui, Z.** (2013). Analyse des déterminants de la production du blé en Algérie Cas des wilayas Tiaret, Sétif et Médéa L'échantillon 1990 – 2009. Mémoire de Master en Sciences Economiques, de Gestion et Commerciales. Université Abderrahmane Mira Bejaia. 2p.
- Bousba, R.** (2012). Caractérisation de la tolérance a la sécheresse chez le blé dur (*Triticum durum Desf.*). Thèse de Doctorat. Université des Frères Mentouri Constantine..117p.
- Bousba, R., Djekoun, A., Duraa, S., & Ykhlef, N.** (2013). Caractérisation moléculaire et association marqueur SSR phénotype pour la tolérance au stress hydrique chez le blé dur (*Triticum durum Desf.*). Eur. Sci. J, 9(12), 186-201.
- Bouzi, S.** (2010). Étude de l'effet de la salinité et de la présence du molybdène sur le comportement écophysologique de deux variétés de plantes de l'espèce *Phaseolus vulgaris L.* Mémoire de Magistère. Université des Frères Mentouri Constantine. 29 p.
- Boydak, M., Dirik, H., Tilki, F., & Çaliloglu, M.** (2003). Effects of water stress on germination in six provenances of *Pinus brutia* seeds from different bioclimatic zones in Turkey. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 27(2), 91-97.
- Boyer, J. S.** (1982). Plant productivity and environment. Science, 218(4571), 443-448.
- Brahimi, H.A.** (2017). Variations phénotypiques pour la tolérance aux stress salin et hydrique chez le blé tendre (*Triticum aestivum L.*). Mémoire de Master en Biotechnologie et Génomique Végétale. Université Mohames Boudiaf - M'Sila. 11-18p.
- Campalans, A., Messeguer, R., Goday, A., & Pagès, M.** (1999). Plant responses to drought, from ABA signal transduction events to the action of the induced proteins. Plant Physiology and Biochemistry, 37(5), 327-340.
- Chadli, R.** (2007). Contribution à l'étude des réponses physiologiques, anatomiques et cytogénétiques de la fève (*Vicia faba L.*) Thèse de Doctorat. Université Es-Sénia Oran. 120p.
- Chaib, G., Benlaribi, M., & Hazmoune, T.** (2015). Accumulation d'osmoticums chez le blé dur (*Triticum durum Desf.*) sous stress hydrique. European Scientific Journal, 11(24), 378-395.
- Chaumeil, P.** (2006). Plasticité moléculaire de deux écotypes de pin maritime soumis à un stress osmotique. Thèse de Doctorat de l'Université Henri Poincaré, France.
- Choueiri, E.** (2003). Stratégie et politique agricole, analyse des filières : la céréaliculture. Document de Travail, Ministère de l'Agriculture. République Libanaise. FAO Projet "Assistance au Recensement Agricole".
- Clarke, J. M., & Mac-Gaic, T. N.** (1982). Excised-leaf water retention capability as an indicator of drought resistance of *Triticum* genotypes. Canadian Journal of Plant Science, 62(3), 571-578.
- Côme, D.** (1970). Les obstacles à la germination. In Bulletin mensuel de la Société linnéenne de Lyon (Ed.). (pp. 162). Paris : Masson et Cie.
- Cramer, G. R.** (2002). Sodium-calcium interactions under salinity stress. In Salinity: Environment-plants-molecules (pp. 205-227). Springer, Dordrecht.
- Cuin, T. A., & Shabala, S.** (2007). Compatible solutes reduce ROS-induced potassium efflux in Arabidopsis roots. Plant, cell & environment, 30(7), 875-885.

Références bibliographiques

- Darbyshire, B.** (1974). The function of the carbohydrate units of tree fungal enzymes in their resistance to dehydration. *Plant Physiol.*, 54: 717-721.
- David, J. C., & Grongnet, J. F.** (2001). Les protéines de stress. *Productions Animales* 1 (14), 29-40.
- De Leonardis, A., Macciola, V., Lembo, G., Aretini, A., & Nag, A.** (2007). Studies on oxidative stabilisation of lard by natural antioxidants recovered from olive-oil mill wastewater. *Food Chemistry*, 100(3), 998-1004.
- De Rodríguez, D. J., Romero-García, J., Rodríguez-García, R., & Angulo-Sanchez, J. L.** (2002). Characterization of proteins from sunflower leaves and seeds: relationship of biomass and seed yield. *Trends in new crops and new uses*. ASHS Press, Alexandria, VA, 143-149
- Debaeke, P., Puech, J., Casals, M. L., & Petibon, P.** (1996). Élaboration du rendement du blé d'hiver en conditions de déficit hydrique. I. Étude en lysimètres.
- Debiton, C.** (2010). Identification des critères du grain de blé (*Triticum aestivum L.*) favorables à la production de bioéthanol par l'étude d'un ensemble de cultivars et par l'analyse protéomique de lignées isogéniques waxy. Thèse de Doctorat. Université Clermont-Ferrand, France.
- Delatorre-Herrera, J., Rojas-Urrutia, J., Rojo, L. E., & Graf, B. L.** (2019). Osmotic stress in *Chenopodium quinoa Willd.*: Variations in osmoprotectants at different phenological stages.
- Delauney, A. J., & Verma, D. P. S.** (1993). Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *The plant journal*, 4(2), 215-223.
- Denden, M., Bettaieb, T., Salhi, A., & Mathlouthi, M.** (2005). Effet de la salinité sur la fluorescence chlorophyllienne, la teneur en proline et la production florale de trois espèces ornementales. *Tropicicultura*, 23(4), 220-225.
- Dicko, P., & Mamoudou, H.** (2006). Travaux Pratiques de Biochimie Structurale et d'Enzymologie. Centre de recherche en Sciences Biologiques Alimentaires et Nutritionnelles. Université Ouagadougou. 4-37.
- Divya, K., Bhatnagar-Mathur, P., Sharma, K. K., & Reddy, P. S.** (2019). Heat Shock Proteins (Hsps) Mediated Signalling Pathways During Abiotic Stress Conditions. In *Plant Signaling Molecules* (pp. 499-516). Woodhead Publishing.
- Djahra, A., Benmakhlouf, Z., Benkhirara, S., Benkaddour, M., & Bordjiba, O.** (2015). Effet de stress salin sur la teneur en eau et certains osmolytes chez le blé dur *Triticum durum* var kebir pulvérisé une phytohormone synthétisée : benzyl-amino-purine (BAP). *Algerian journal of arid environment* 71, vol 5, N°2 :71-81.
- Djekoun, A., & Planchon, C.** (1992). Stomatal conductance, photosynthesis and acetylene reduction rate in soybean genotypes. *Canadian Journal of Plant Science*, 72(2), 383-390.
- Djekoun, A., & Ykhlef, N.** (1996). Déficit hydrique, effets stomatiques et non-stomatiques et activité photosynthétique chez quelques génotypes de blé tétraploïdes. 3ème Réunion du Réseau SEWANA, de Blé Dur.
- Djerah, A., & Oudjehih, B.** (2016). Effet du stress salin sur la germination de seize variétés d'orge (*Hordeum vulgare L.*). *Courrier du Savoir*, 20, 47-56.
- Djermoun, A.** (2009). La production céréalière en Algérie: les principales caractéristiques. *Nature & Technology*, (1), 45.
- Doré C., Varoquaux F.** (2006). Histoire et amélioration de cinquante plantes cultivées. Ed INRA. 812 p.
- Dubey, R. S., & Singh, A. K.** (1999). Salinity induces accumulation of soluble sugars and alters the activity of sugar metabolising enzymes in rice plants. *Biologia Plantarum*, 42(2), 233-239.

Références bibliographiques

- Dubos, C.** (2001). Réponse moléculaire de jeunes plants de pin maritime soumis à un stress hydrique en milieu hydroponique. Thèse de doctorat. Université Henri Poincaré Nancy I: 225p.
- Ducellier, L.** (1930). Espèces et variétés de céréales cultivées en Algérie. Direction de l'agriculture et de la colonisation.
- El Houssine Tahri, A. B., & Sadki, K.** (1998). Effet d'un stress osmotique sur l'accumulation de proline, de chlorophylle et des ARNm codant pour la glutamine synthétase chez trois variétés de blé dur (*Triticum durum*). Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat, 1997(21), 81-87.
- El Jaafari, S.** (1993). Contribution à l'étude des mécanismes biophysiques et biochimiques de résistance à la sécheresse chez le blé. Thèse de Doctorat. Université Gembloux Belgique. 3-34-214p.
- Erchidi, A. E., Benbella, M., & Talouizte, A.** (2000). Relation entre certains paramètres contrôlant les pertes en eau et le rendement grain chez neuf variétés de blé dur soumises au stress hydrique. CIHEAM, Options Méditerranéennes, Séries Séminaires, 40, 279-282.
- FAO.** (2019). Bulletin de la FAO sur l'offre et la demande de céréales.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., & Basra, S. M. A.** (2009). Plant drought stress: effects, mechanisms and management. In Sustainable agriculture (pp. 153-188). Springer, Dordrecht.
- Farshadfar, E., Ghasempour, H., & Vaezi, H.** (2008). Molecular aspects of drought tolerance in bread wheat (*T. aestivum*). Pakistan journal of biological sciences: PJBS, 11(1), 118-122.
- Farsiani, A., & Ghobadi, M. E.** (2009). Effects of PEG and NaCl stress on two cultivars of corn (*Zea mays L.*) at germination and early seedling stages. World Acad. Sci. Eng. Tech, 57, 382-385.
- Feillet, P.** (2000). Le grain de blé: composition et utilisation. Paris, France : Editions Quae.
- Feliachi, K., Amroun, R., & Khaldoun, A.** (2001). Impact de la sécheresse sur la production des céréales cultivées dans le nord de l'Algérie. Céréaliculture-ITGC Algérie, 35, 28-34.
- Freitas, P. A. F., Carvalho, H. H., Costa, J. H., Souza Miranda, R., da Cruz Saraiva, K. D., de Oliveira, F. D. B., & Gomes-Filho, E.** (2019). Salt acclimation in sorghum plants by exogenous proline: physiological and biochemical changes and regulation of proline metabolism. Plant cell reports, 38(3), 403-416.
- Ghrib, C. D., Gharbi, F., Rejeb, S., Khoudja, L., & Rejeb, M. N.** (2011). Tolérance à la salinité de trois espèces d'*Eucalyptus* aux stades germinatif et plantule. European Journal of Scientific Research, 50(2), 208 – 217.
- Gorham, J.** (1993). Genetics and physiology of enhanced K/Na discrimination. In Genetic aspects of plant mineral nutrition (pp. 151-158). Springer, Dordrecht.
- Gouia, H., Ghorbal, M. H., & Touraine, B.** (1994). Effects of NaCl on flows of N and mineral ions and on NO₃-reduction rate within whole plants of salt-sensitive bean and salt-tolerant cotton. Plant Physiology, 105(4), 1409-1418.
- Graziano, S., Marando, S., Prandi, B., Boukid, F., Marmioli, N., Francia, E., & Gulli, M.** (2019). Technological quality and nutritional value of two durum wheat varieties depend on both genetic and environmental factors. Journal of agricultural and food chemistry, 67(8), 2384-2395.
- Guideroni, E., & Breitler, J. C.** (2006). Apport de la transgénèse à l'amélioration du riz. L'exemple du riz doré. Le Sélectionneur Français, (57), 57-68.
- Hajlaoui, H., Denden, M., & Bouslama, M.** (2007). Etude de la variabilité intraspécifique de tolérance au stress salin du pois chiche (*Cicer arietinum L.*) au stade germination. Tropicultura, 25(3), 168-173.

Références bibliographiques

- Hajlaoui, H., Denden, M., & Bouslama, M.** (2007). Etude de la variabilité intraspécifique de tolérance au stress salin du pois chiche (*Cicer arietinum L.*) au stade germination. *Tropicultura*, 25(3), 168-173.
- Hamdia, M. A. E. S., Shaddad, M. A. K., & Doaa, M. M.** (2004). Mechanisms of salt tolerance and interactive effects of *Azospirillum brasilense* inoculation on maize cultivars grown under salt stress conditions. *Plant Growth Regulation*, 44(2), 165-174.
- Hamla, C.** (2016). Caractérisation des gènes de tolérance à la sécheresse chez le blé dur : étude du rôle des déhydrines et des aquaporines. Thèse de doctorat. Université des Frères Mentouri Constantine. 25p.
- Hanana, M., Hamrouni, L., Cagnac, O., & Blumwald, E.** (2011). Mécanismes et stratégies cellulaires de tolérance à la salinité (NaCl) chez les plantes. *Environmental Reviews*, 19(NA), 121-140.
- Haouala, F., Ferjani, H., & El Hadj, S. B.** (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. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 11(3), 235-244.
- Haouala, F., Ferjani, H., & El Hadj, S. B.** (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. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 11(3), 235-244.
- Hassani, A., Dellal, A., Belkhodja, M., & Kaid-Harche, M.** (2008). Effet de la salinité sur l'eau et certains osmolytes chez l'orge (*Hordeum vulgare*). *Eur. J. Sci. Res*, 23(1), 61-69.
- Hayek, T., & Abdelly, C.** (2004). Effets de la salinité sur l'état hydrique foliaire, la conductance stomatique, la transpiration et le rendement en grains chez 3 populations de mil (*Pennisetum glaucum L.*). *Revue des régions arides*, 1, 273-284.
- Hébrard J.P.** (1996). Blé dur : objectif qualité, NUTRITION: des pâtes épatantes. Document édité à l'occasion du colloque : perspectives blé dur, Toulouse, Labège, 26 Novembre 1996 organisé par: ITCF-ONIC-INRA- ITCF, p 6-7.
- Hikosaka, K., Kato, M. C., & Hirose, T.** (2004). Photosynthetic rates and partitioning of absorbed light energy in photoinhibited leaves. *Physiologia Plantarum*, 121(4), 699-708.
- Hireche, Y.** (2006). Réponse de la luzerne (*Medicago sativa L.*) au stress hydrique et à la profondeur du semis. Mémoire de Magistère. Université EL Hadj Lakhdar Batna. 83 p.
- Hopkins, W. G.** (2003). *Physiologie végétale*. Bruxelles, Belgique: Editions De Boeck Supérieur.
- Hospital, F.** (2001). Size of donor chromosome segments around introgressed loci and reduction of linkage drag in marker-assisted backcross programs. *Genetics*, 158 (3) : 1363–1379.
- Huang, S., Sirikhachornkit, A., Su, X., Faris, J., Gill, B., Haselkorn, R., & Gornicki, P.** (2002). Genes encoding plastid acetyl-CoA carboxylase and 3-phosphoglycerate kinase of the Triticum/Aegilops complex and the evolutionary history of polyploid wheat. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(12), 8133-8138.
- Ingram, J., & Bartels, D.** (1996). The molecular basis of dehydration tolerance in plants. *Annual review of plant biology*, 47(1), 377-403.
- Ishitani, M., Liu, J., Halfter, U., Kim, C. S., Shi, W., & Zhu, J. K.** (2000). SOS3 function in plant salt tolerance requires N-myristoylation and calcium binding. *The Plant Cell*, 12(9), 1667-1677.
- Iskandar, H. M., Casu, R. E., Fletcher, A. T., Schmidt, S., Xu, J., Maclean, D. J., ... & 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.

- Jajoo, A.** (2013). Changes in photosystem II in response to salt stress. In *Ecophysiology and Responses of Plants under Salt Stress* (pp. 149-168). Springer, New York, NY.
- Jangpromma, N., Kitthaisong, S., Daduang, S., Jaisil, P., & Thammasirirak, S.** (2007). 18 kDa protein accumulation in sugarcane leaves under drought stress conditions. *CURRENT APPLIED SCIENCE AND TECHNOLOGY*, 7(1-1), 44-54.
- Janowska, M. K., Baughman, H. E., Woods, C. N., & Klevit, R. E.** (2019). Mechanisms of Small Heat Shock Proteins. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, a034025.
- Jaouadi, W., Hamrouni, L., Souayah, N., & Khouja, M. L.** (2010). Etude de la germination des graines d'*Acacia tortilis* sous différentes contraintes abiotiques. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 14(4), 643-652.
- Kefu, Z., Munns, R., & King, R. W.** (1991). Abscisic acid levels in NaCl-treated barley, cotton and saltbush. *Functional Plant Biology*, 18(1), 17-24.
- Khane, H., & Balz, A.** (2018). Application des indices physiologiques et biochimiques pour la discrimination des plantes de blé dur (*Triticum durum Desf.*) soumises au stress salin en milieu hydroponique. Mémoire de Master en Biotechnologie et Génomique Végétale. Université des Frères Mentouri Constantine. 11-18p.
- Khayatnezhad, M., & Gholamin, R.** (2011). Effects of water and salt stresses on germination and seedling growth in two durum wheat (*Triticum durum Desf.*) genotypes. *Scientific Research and Essays*, 6(21), 4597-4603.
- Kotchi, S. O.** (2004) Détection du stress hydrique par thermographie infrarouge: Application à la culture de la pomme de terre. Mémoire pour l'obtention du grade de Maîtrise es-sciences. Université Québec, Canada. 41p.
- Kpinkoun, J. K., Zanklan, S. A., Komlan, F. A., Mensah, A. C., Montcho, D., Kinsou, E., & Gandonou, C. B.** (2019). Évaluation de la résistance à la salinité au stade jeune plant de quelques cultivars de piment (*Capsicum spp.*) du Bénin. *Journal of Applied Biosciences*, 133(1), 13561-13573.
- Laemmli, U. K.** (1970). Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. *Nature*, 227(5259), 680-685.
- Lamaze, T., Tousch, D., Sarda X., Grignon, C., Depigny, D., Monneveux, P. & Belhassen, E.** (1994). Résistance de plantes a la sécheresse : mécanismes physiologiques. *Le sélectionneur Français*, 45: 75-85.
- Larcher, W.** (1995). Plant under stress. In *Physiological Plant Ecology*. 3ème ed. Springer: 321-448.
- Lepoivre, P.** (2003). Phytopathologie: Bases moléculaires et biologiques des pathosystèmes et fondements des stratégies de lutte. *De Boeck Supérieur*, 27-28.
- Levigneron, A., Lopez, F., Vansuyt, G., Berthomieu, P., Fourcroy, P., & Casse-Delbart, F.** (1995). Les plantes face au stress salin. *Cahiers Agricultures*, 4(4), 263-273.
- Levitt, J.** (1980). *Responses of Plants to Environmental Stress, Volume 1: Chilling, Freezing, and High Temperature Stresses*. Academic Press.
- Levy, A. A., & Feldman, M.** (2002). The impact of polyploidy on grass genome evolution. *Plant physiology*, 130(4), 1587-1593.
- Liu, J., Ishitani, M., Halfter, U., Kim, C. S., & Zhu, J. K.** (2000). The Arabidopsis thaliana SOS2 gene encodes a protein kinase that is required for salt tolerance. *Proceedings of the national academy of sciences*, 97(7), 3730-3734.
- M'HAMED, H. C., Abdellaoui, R., Kadri, K., NACEUR, M. B., & HADJ, S. B.** (2008). Evaluation de la tolérance au stress salin de quelques accessions d'orge (*Hordium vulgare L.*) cultivées en Tunisie: approche physiologique. *Sciences & Technologie. C, Biotechnologies*, (28), 30-37.
- Maas, E. V., & Poss, J. A.** (1989). Salt sensitivity of wheat at various growth stages. *Irrigation Science*, 10(1), 29-40.

- Maillard, J.** (2001). Le point sur l'irrigation et la salinité des sols en zone aride: Risques et Recommandations. Handicap International.
- Marguerit, E.** (2010). Déterminisme génétique des réponses au déficit hydrique de la transpiration et de la croissance, induites par le porte-greffe, chez la vigne. Thèse de doctorat. Université de Bordeaux France. 229p.
- Mascher, R., Nagy, E., Lippmann, B., Hörnlein, S., Fischer, S., Scheiding, W., & Bergmann, H.** (2005). Improvement of tolerance to paraquat and drought in barley (*Hordeum vulgare* L.) by exogenous 2-aminoethanol: effects on superoxide dismutase activity and chloroplast ultrastructure. *Plant Science*, 168(3), 691-698.
- Maury, P., Langlade, N., Grieu, P., Rengel, D., Sarrafi, A., Debaeke, P., & Vincourt, P.** (2011). Ecophysiologie et génétique de la tolérance à la sécheresse chez le tournesol. *Innovations Agronomiques*, 14, 123-138.
- Mefti, M., Abdelguerfi, A., & Chebouti, A.** (2001). Etude de la tolérance à la sécheresse chez quelques populations de *Medicago truncatula* (L.) Gaertn. Qualité de la luzerne et des medics pour la production animale, 173-176.
- Mefti, M., Bouzerzour, H., Abdelguerfi, A., & Nouar, H.** (2008). Morphological and growth characteristics of perennial grass cultivars grown under semi-arid conditions of the Algerian high plateaus. *Journal of Agronomy*, 7, 138-147.
- Mehani, M., Bissati, S., & Djeroudi, O.** (2012). Effet d'eau de mer sur deux paramètres hydriques (turgescence et transpiration) de jeunes plants d'*Atriplex canescens*. *J. Mater. Environ. Sci*, 3(5), 840-845.
- 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), 65.
- Moaveni, S.** (2011). Finite element analysis theory and application with ANSYS, 3/e. Pearson Education India.
- Monneveux, P., & Nemmar, M.** (1986). Contribution à l'étude de la résistance à la sécheresse chez le blé tendre (*Triticum aestivum* L.) et chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.): étude de l'accumulation de la proline au cours du cycle de développement. *Agronomie*, 6(6), 583-590.
- Monneveux, P., & This, D.** (1997). La génétique face au problème de la tolérance des plantes cultivées à la sécheresse: espoirs et difficultés. *Science et changements planétaires/Sécheresse*, 8(1), 29-37.
- Moulineau, C.** (1993). Variation sous contraintes hydrique de la teneur en acides aminées libres foliaires du mil. Centre d'étude de Cadarache 13108 Saint Paul les Durance Cedex : 234-244 p.
- Mrani-Alaoui, M., El Jourmi, L., Ouarzane, A., Lazar, S., El Antri, S., Zahouily, M., Hmyene, A.** (2013). Effet du stress salin sur la germination et la croissance de six variétés marocaines de blé. *J Mater Environ. Sci*, 4 (6) : 997-1004.
- Munns, R.** (1993). Physiological processes limiting plant growth in saline soils: some dogmas and hypotheses. *Plant, Cell & Environment*, 16(1), 15-24.
- Munns, R., James, R. A., & Läuchli, A.** (2006). Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *Journal of experimental botany*, 57(5), 1025-1043.
- Ndour, P., & Danthu, P.** (1998). Effet des contraintes 1 hydrique et saline 1 sur la germination de 1 quelques *acacias* africains.
- Neffar, F.** (2013). Analyse de l'expression des gènes impliqués dans la réponse au stress abiotiques dans différents génotypes de blé dur (*Triticum durum*) et d'orge (*Hordeum vulgare*) soumis à la sécheresse. Thèse doctorat. Université Ferhat Abbas Sétif. 86p.

Références bibliographiques

- Nguyen, N. H., Nguyen, C. T. T., Jung, C., & Cheong, J. J.** (2019). AtMYB44 suppresses transcription of the late embryogenesis abundant protein gene AtLEA4-5. *Biochemical and biophysical research communications*
- Nouri, L.** (2002). Ajustement osmotique et maintien de l'activité photosynthétique chez le blé dur (*Triticum durum Desf.*), en condition de déficit hydrique. Mémoire de Magistère. Université des frères Mentouri Constantine. 77p.
- Nyachiro, J. M., Briggs, K. G., Hoddinott, J., & Johnson-Flanagan, A. M.** (2001). Chlorophyll content, chlorophyll fluorescence and water deficit in spring wheat. *Cereal Research Communications*, 135-142.
- Osborne, J.M., Fox, J.E.D., & Mercer, S.** (1993). Germination response under elevated salinities of six semi-arid blue bush species (Western Australia). In Lieth, H., & Al Masoom, A. (Ed.), *Towards the Rational Use of High Salinity tolerant Plants* (Vol. 27, pp. 323-338). Springer, Dordrecht.
- Ouerghi, Z., Zid, E., Hajji, M., & Soltani, A.** (1998). Comportement physiologique du blé dur (*Triticum durum L.*) en milieu salé. *CIHEAM-Options Méditerranéennes*, 309-31.
- Ouhaddach, M., ElYacoubi, H., Douaik, A., Hmouni, D., & Rochdi, A.** (2016). Réponse à la salinité de quelques paramètres physiologiques et biochimiques du Blé (*Triticum aestivum L.*) au stade montaison.
- Ouhaddach, M., Hmouni, M.F., ElYacoubi, D., Zidane, H., Douaik, L., & Rochdi-Atmane, A.** (2015). Effet du Chlorure de Sodium (NaCl) sur les Paramètres de Germination du blé Tendre (*Triticum aestivum L.*). *European Journal of Scientific Research*, 127(3), 298-310.
- Oukarroum, A.** (2007). Vitalité des plantes d'orge (*Hordeum vulgare L.*) en conditions de stress hydrique et thermique analysée par la fluorescence chlorophyllienne. Thèse de docotart. Université de Genève Suisse. 16p.
- Oukarroum, A., El Madidi, S., Schansker, G., & Strasser, R. J.** (2007). Probing the responses of barley cultivars (*Hordeum vulgare L.*) by chlorophyll a fluorescence OLKJIP under drought stress and re-watering. *Environmental and Experimental Botany*, 60(3), 438-446.
- Parwata, I., Indradewa, D., Yudono, P., Kertonegoro, B. D., & Kusmarwiyah, R.** (2013). Physiological Responses of Jatropha to Drought Stress in Coastal Sandy Land Conditions. *Makara Journal of Science*, 115-121.
- Pellegrini, P. A.** (2012). Innovation en transgénése végétale: relations public-privé en france et en argentine. *innovations*, (1), 195-217.
- Pelletier, G.** (2008). Génomique et biotechnologie pour l'amélioration de l'utilisation de l'azote et de l'eau. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 15(5), 327-331.
- Pelletier, G.** (2013). Comment la génétique pourra contribuer à l'adaptation des plantes au déficit hydrique.
- Pelletier, G.** (2013). Comment la génétique pourra contribuer à l'adaptation des plantes au déficit hydrique.
- Price, A. H., & Hendry, G. A. F.** (1991). Iron-catalysed oxygen radical formation and its possible contribution to drought damage in nine native grasses and three cereals. *Plant, Cell & Environment*, 14(5), 477-484.
- Radhouane, L.** (2006). Diversité morpho-phénologique, caractérisation agro-physiologique et mécanismes d'adaptation aux contraintes hydriques et salines de populations autochtones de mil. Thèse de doctorat d'état, INAT. Université de Carthage Tunisie. 289p.
- Radhouane, L.** (2007). Response of Tunisian autochthonous pearl millet (*Pennisetum glaucum (L.) R. Br.*) to drought stress induced by polyethylene glycol (PEG) 6000. *African journal of biotechnology*, 6(9).

- Radhouane, L., Aissa, N., & Romdhane, L.** (2014). Effets d'un stress hydrique appliqué à différents stades de développement sur l'aspect quantitatif et qualitatif des semences chez un écotype autochtone de sorgho grain (*Sorghum bicolor*). *Journal of Applied Biosciences*, 74(1), 6149-6156.
- Rahmoune, C., Sdiri, H., Meddahi, M. L., & Selmi, M.** (2001). Effet du stress salin sur la germination, la croissance et la production en grains de quelques variétés maghrébines de blé. *Science et changements planétaires/Sécheresse*, 12(3), 167-74.
- Rasio, A., Sorrentino, G., Cedola, M.C., Pastore, D., & Wittner, G.** (1987). Osmotic and elastic adjustment of durum wheat leaves under stress conditions. *Genetic Agr*, 41, 427-436.
- Redondo-Gomez, S., Wharmby, C., Castillo, J.M., Mateos-Naranjo, E., Luque, C.J., De Cires, A., Luque, T., Davy, A.J., & Figueroa, M.E.** (2006). Growth and photosynthetic responses to salinity in an extreme halophyte, *Sarcocornia fruticosa*. *Physiol Plant*, 128, 116-124.
- Rejili, M., Vadel, A. M., & Neffati, M.** (2006). Comportements germinatifs de deux populations de *Lotus creticus* (L.) en présence du NaCl. *Revue des régions arides*, (17), 65-78.
- Rezgui, M., Bizid, E., & Ben Mechlia, N.** (2004). Etude de la sensibilité au déficit hydrique chez quatre variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.) cultivées en conditions pluviales et irriguées en Tunisie. *Revue des Régions Arides*, 1, 258-265.
- Sami, F., Yusuf, M., Faizan, M., Faraz, A., & Hayat, S.** (2016). Role of sugars under abiotic stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 109, 54-61.
- Sayar, R., Bchini, H., Mosbahi, M., & Ezzine, M.** (2010). Effects of salt and drought stresses on germination, emergence and seedling growth of durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *African Journal of Agricultural Research*, 5(15), 2008-2016.
- Schulze, E. D., Beck, E., & Müller-Hohenstein, K.** (2005). *Plant Ecology*—Springer Berlin.
- Sentenac, H., & Berthomieu, E. 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.
- Silva, P., & Gerós, H.** (2009). Regulation by salt of vacuolar H⁺-ATPase and H⁺-pyrophosphatase activities and Na⁺/H⁺ exchange. *Plant Signaling Behavior*, 4(8), 718-726.
- Simmons, S. R., Oelke, E. A., & Anderson, P. M.** (1995). Growth and development guide for spring wheat.
- Sinclair, T. R., & Ludlow, M. M.** (1985). Who taught plants thermodynamics? The unfulfilled potential of plant water potential. *Functional Plant Biology*, 12(3), 213-217.
- Slama, A.** (2002). Étude comparative de la contribution des différentes parties du plant du blé dur dans la contribution du rendement en grains en irrigué et en conditions de déficit hydrique. Thèse de doctorat. Université Elmanar Tunisie. 28p.
- Slama, A., Ben Salem, M., Ben Naceur, M., & Zid, E.** (2005). Les céréales en Tunisie: production, effet de la sécheresse et mécanismes de résistance. *Sécheresse*, 16(3), 225-229.
- Smith, P. T., & Cobb, B. G.** (1991). Physiological and enzymatic activity of pepper seeds (*Capsicum annuum*) during priming. *Physiologia Plantarum*, 82(3), 433-439.
- Sofield, I., Evans, L. T., Cook, M. G., & Wardlaw, I. F.** (1977). Factors influencing the rate and duration of grain filling in wheat. *Functional Plant Biology*, 4(5), 785-797.
- Sreenivasulu, N., Grimm, B., Wobus, U., & Weschke, W.** (2000). Differential response of antioxidant compounds to salinity stress in salt-tolerant and salt-sensitive seedlings of foxtail millet (*Setaria italica*). *Physiologia Plantarum*, 109(4), 435-442.
- Srivastava, O. P., & Gupta, R., Asomugha, C. O.** (2011). The common modification in α A-crystallin in the lens, N101D, is associated with increased opacity in a mouse model. *Journal of Biological Chemistry*, 286(13), 11579-11592.

Références bibliographiques

- Temagoult, M.** (2009). Analyse de la variabilité de la réponse au stress hydrique chez des lignées recombinantes de Tournesol (*Helianthus annuus* L.). Mémoire de magistère. Université des frères Mentouri Constantine. 16p.
- Toumi, M., Barris, S., & Aid, F.** (2014). Effects of water and osmotic stress on the accumulation of proline and malondialdehyde (MDA) in two varieties of colza (*Brassica napus* L.). Bulletin de l'Institut Scientifique: Section Sciences de la Vie, 36, 17-24.
- Troll, W., & Lindsley, J.** (1955). A photometric method for the determination of proline. Journal of biological chemistry, 215(2), 655-660.
- Tunnacliffe, A., & Wise, M. J.** (2007). The continuing conundrum of the LEA proteins. Naturwissenschaften, 94(10), 791-812.
- Veselovsky, H.** (1985). Sunflower growing. J. Selyskoe Hozayaystvo I lesovodstvo. T.O. XLVIII (In Russian).
- Villegas, D., Aparicio, N., Blanco, R., & Royo, C.** (2001). Biomass accumulation and main stem elongation of durum wheat grown under Mediterranean conditions. Annals of Botany, 88(4), 617-627.
- Virlouvet, C.** (2011). Les entrepôts dans le monde romain antique, formes et fonctions. Premières pistes pour un essai de typologie. In Horrea d'Hispanie et de la méditerranée romaine (pp. 7-22).
- Virlouvet, L.** (2011). Identification et caractérisation de gènes impliqués dans la variation de caractères quantitatifs affectés par la sécheresse chez le maïs. Thèse de doctorat. Université paris sud 11 France. scientifique d'orsay. 304p.
- Wang, W., Vinocur, B., & Altman, A.** (2003). Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. Planta, 218(1), 1-14.
- Wang, W., Vinocur, B., Shoseyov, O., & Altman, A.** (2004). Role of plant heat-shock proteins and molecular chaperones in the abiotic stress response. Trends in plant science, 9(5), 244-252.
- Wilfried, C.** (2005). Proline as a measure of stress in tomato plants. *Plant science*, 168(1), 241-248.
- Xu, F.S.** (1990). New genus and species of *Polyplacophora* (*Mollusca*) from the East China Sea. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 8.4: 375-377.
- Yamaguchi-Shinozaki, K., Koizumi, M., Urao, S., & Shinozaki, K.** (1992). Molecular cloning and characterization of 9 cDNAs for genes that are responsive to desiccation in *Arabidopsis thaliana*: Sequence analysis of one cDNA clone that encodes a putative transmembrane channel protein. Plant and Cell Physiology, 33(3), 217-224.
- Yeo, A. R.** (1983). Salinity resistance: physiology and prices. *Physiologia plantarum*, 58(2), 214-222.
- Yokota, A., Takahara, K., & Akashi, K.** (2006). Water stress. In *Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants* (pp. 15-39). Springer, Dordrecht.
- Zerrad, W., Maataoui, B. S., Hilali, S., El Antri, S., & Hmyene, A.** (2008). Etude comparative des mécanismes biochimiques de résistance au stress hydrique de deux variétés de blé dur. Lebanese Science Journal, 9(2), 27-36.
- Zhu, J. K., Shi, J., Singh, U., Wyatt, S. E., Bressan, R. A., Hasegawa, P. M., & Carpita, N. C.** (1993). Enrichment of vitronectin- and fibronectin-like proteins in NaCl-adapted plant cells and evidence for their involvement in plasma membrane-cell wall adhesion. The Plant Journal, 3(5), 637-646.

Annexes

Annexe.1.

Solutions et tampon d'extraction des protéines totales

a) Solution de précipitation (A)

	Concentration finale	100ml
TCA	10%	10g
2-mercaptoéthanol	0.07%	70ul
acétone		Qsp 100ml

Conserver la solution à -20°C.

b) Solution de rinçage (B)

	Concentration finale	100ml
2-mercaptoéthanol	0.07%	70ul
acétone		Qsp 100ml

Conserver la solution à -20°C.

Annexe.2.

Solutions et tampons utilisés pour la préparation des gels

a) Gel de séparation 12%

	Concentration finale	volume
Acry Bis 40%		1.8ml
1.5M Tris-HCl pH 8.8	0.375M	1.5ml
10% SDS	0.1%	60ul
10% APS	0.05%	30ul
TEMED	0.1%	6ul
H2O Distillée		2.6ml

b) Gel de concentration 4%

	Concentration finale	volume
Acry Bis 40%		0.2ml
0.5M TrisHCl pH 6.8	0.375M	0.5ml
10% SDS	0.1%	20ul
10% APS	0.05%	10ul
TEMED	0.1%	2ul
H2O Distillée		1.27ml

c) Butanol saturé en eau

	Volume
n-Butano	50ml
H2O Distillée	5ml

Bien homogénéiser, utiliser la phase supérieure.

d) Tampon d'électrophorèse 10X pH 8.3

	Concentration finale	1L
Tris base	0.25M	30.30g
Glycine	1.92M	144.10g
SDS	1%	10g
H2O Distillée		1L

Tampon d'électrophorèse 1X : Diluer 100ml du tampon 10X avec 900 ml d H2O Distillée.

Annexe.3.

Solutions de révélation et de décoloration

a) Solution de la coloration au bleu de coomassie

	Concentration finale	1L
Bleu de coomassie R250	0.025%	250mg
Méthanol	40%	400ml
Acide acétique	7%	70ml
H2O distillée		Qsp 1L

b) Solution de la décoloration

	Concentration finale	1L
Méthanol	5%	50ml
Acide acétique	7%	70ml
H2O distillée		Qsp 1L

INTITULÉ: ETUDE COMPARATIVE DES EFFETS DU STRESS SALIN ET HYDRIQUE SUR LA GERMINATION ET SUR LE COMPORTEMENT PHYSIOLOGIQUE ET BIOCHIMIQUE DE DEUX VARIÉTÉS DE BLÉ DUR.

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biotechnologie et Génomique Végétale

Résumé :

La compréhension des mécanismes de tolérance au stress chez le blé, demeure primordiale afin de pallier aux effets néfastes du stress et dévoiler les stratégies adaptatives mises en place par cette céréale.

Deux variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.) Beliouni et Waha ont été utilisées dans nos expérimentations. Dans un premier temps, une étude de la germination a été réalisée en présence de NaCl (0, 100 et 200mM) et en présence de PEG-6000 (0, 10 et 20%), en prenant en compte différentes variables représentatives de la réponse des variétés étudiées à ce stade. Ces mêmes variétés ont été ensuite cultivées en chambre de culture pendant trois semaines (stade troisième feuille), à l'issue desquels le lot de plantes stressées fut irrigué avec des solutions contenant les deux osmoticum (NaCl et PEG-6000) suivant les concentrations précédemment mentionnées. Différents paramètres ont été considérés : le taux de chlorophylle, la teneur relative en eau, le taux de sucres solubles et le taux de proline, ainsi que l'électrophorèse SDS-PAGE des protéines foliaires totales.

Les résultats obtenus ont montré que le NaCl et le PEG-6000 ont un effet dépressif sur le taux de germination et sur la croissance des plantules. Un effet qui varie en fonction de l'intensité du stress et de la variété considérée. Cela a également induit des différences notables aussi bien pour le taux de sucres et de proline qui se traduisent par une hausse des valeurs observées. Que pour la teneur relative en eau et le taux de chlorophylle qui ont tendance à diminuer en présence de stress. Le PEG-6000 s'est avéré être l'osmoticum le plus préjudiciable. Les différences observées concernant les bandes protéiques révélées par SDS-PAGE, touchent aussi bien le poids moléculaire et l'intensité. Les deux variétés étudiées répondent toutes deux aux agents de sélection, mais dans des proportions différentes qui varient également en fonction du type d'osmoticum et de la sévérité du stress.

Mots clés : Blé dur, NaCl, PEG-6000, germination, tolérance, troisième feuille.

Laboratoire de recherche : Génétique Biochimie et Biotechnologie végétale (GBBV)

Jury d'évaluation :

Président du jury :	Pr. <i>YKHLEF Nadia</i>	Prof - UFM Constantine.
Encadrant :	Dr. <i>HAMLA Chourouk</i>	MCB - UFM Constantine.
Examineur:	Mlle. <i>MOUELLEF Adra</i>	MAA - UFM Constantine.

Date de soutenance : 17/07/2019