

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université Constantine1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et Ecologie Végétale
Filière Sciences Biologiques

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master en
Biologie et Génomique Végétales

Thème

**Dosage de l'acide abscissique en conditions de stress
hydrique et thermique et étude des mécanismes de
tolérances chez quelques variétés du blé dur (*Triticum
durum* Desf.).**

Présenté par: Melle ABDI Sihem

Melle ZITOUNI Amina

Soutenu le : 22 juin 2014

Devant le jury d'évaluation :

Président (e) : Dr. BOUSBA Ratiba

Encadreur : Pr. YKHLEF Nadia

Examineur : MA. MOUELLEF Adra

Année universitaire 2013-2014

REMERCIEMENTS.

On remercie madame le Professeur Nadia YKHLEF de l'université Constantine 1 d'avoir bien voulu me proposer un sujet pour notre mémoire de fin d'études et d'avoir eu la gentillesse de nous guider tout au long de ce travail. On espère que ce mémoire sera à la hauteur de ses attentes et pourra compenser au moins une partie des efforts et du temps qu'elle a bien voulu me consacrer.

On remercie également Madame le Docteur BOUSBA Ratiba qui nous fait l'honneur de présider le jury de soutenance de ce mémoire.

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

On ne saura jamais remercier suffisamment Monsieur BELBEKRI Nadir, Chef de service et Madame BOULDJADJ Rima, ingénieur de laboratoire, pour leur gentillesse, leur aide précieuse et leur disponibilité

DEDICACE :

À MES CHERS PARENTS Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

À MES CHERS ET ADORABLES FRERES ET SŒUR :
Mouhamed, Maroua et le petit Ayoub

À MA GRAND MERE CHERIE Qui m'a accompagné par ses prières, puisse Dieu lui prêter longue vie et beaucoup de santé

À LA MEMOIRE DE MA GRANDE MERE J'aurais tant aimé
que tu sois présente

À MES CHERS ONCLES, TANTES, LEURS EPOUX ET
EPOUSES

À MES CHERS COUSINS et COUSINES

À MES AMIS DE TOUJOURS :

Sihem, Loubna et Sara sans oublier Wiam, Souad et Selsabile

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

À TOUTES LES PERSONNES QUI ONT PARTICIPÉ A
L'ÉLABORATION DE CE TRAVAIL

ZITOUNI Amina

DEDICACES.

A mon père et à ma mère sans les sacrifices desquels je n'aurais pas pu arriver à ce niveau. Qu'ils trouvent à travers ce mémoire, l'expression de mon immense gratitude et ma plus grande reconnaissance. Que Dieu me les préserve...

A ma sœur Soumia avec de l'affection et à qui je souhaite beaucoup de succès en médecine dentaire et à mon petit frère Ramzi, mais..., grand dans mon cœur.

A mes grand-mères, avec tout l'amour et le respect que je leur dois.

A mes oncles et mes tantes, pour leur affection et leur gentillesse.

A tous mes amis pour leur soutien et leurs encouragements et spécialement mes copines Amina, Loubna et Sara.

Une sincère pensée pour ceux qui nous ont quittés et auxquels je ne pourrais conter ma réussite...

ABDI SIHEM

Dosage de l'acide abscissique en conditions de stress hydrique et thermique et étude des mécanismes de tolérances chez quelques variétés du blé dur (*Triticum durum* Desf.).

Résumé :

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

Notre étude s'intègre dans le cadre d'une recherche multidisciplinaire qui vise le comportement de quatre géotypes de blé dur (*Triticum durum* Desf.) sous deux niveaux de stress hydrique et thermique.

Simeto, Ofonto, Boussallem et Hedba3 ont été cultivés en hydroponique dont un stress hydrique de 4h et 24h ainsi qu'un stress thermique de 4° C et 45° C est appliqué après l'apparition de la quatrième feuille afin d'effectuer une multitude de mesure : la teneur en acide abscissique dans les feuilles et les racines des plantes dans chaque niveau de stress, en utilisant la technique de l'HPLC, la résistance stomatique, la stabilité membranaire, la teneur relative en eau, la surface foliaire et l'analyse électrophorétiques par SDS-PAGE des protéines totales foliaires.

Les résultats montrent que la tolérance du blé dur aux contraintes hydriques et thermiques en fait plusieurs mécanismes de protection déployés par les plantes proportionnelles à la gravité du stress et de sa durée. En outre, il s'est résulté que les quatre variétés suivent les mêmes stratégies de résistance ou de d'évitement face aux différents contraintes abiotiques.

Mots clés :

Blé dur, stress hydrique, stress thermique, ABA, HLPC, résistance stomatique, électrophorèse SDS-PAGE.

Determination of abscisic acid under conditions of water and thermal stress and studying the mechanisms of tolerance in some varieties of durum wheat (*Triticum durum* Desf.).

Summary:

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

Our study forms part of a multidisciplinary research aimed at the behavior of four genotypes of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) Under two levels of water and heat stress.

Simito, Ofonto, Boussallem and Hedba3 were grown hydroponically with water stress 4h and 24h and a thermal stress of 4 ° C and 45 ° C is applied after the emergency of the fourth leaves to perform a multitude Measurement: abscisic acid content in the leaves and roots of plants in each stress level, using the HPLC technique, stomatal resistance, membrane stability, the relative moisture content, leaf area and the electrophoresis by SDS-PAGE analysis of total leaf protein.

The results show that the tolerance of durum wheat to water and thermal stresses induce several protection mechanisms deployed by proportional severity of the stress and duration plants. Furthermore, it results that the four varieties follow the same resistance strategies or avoidance in front of different abiotic stresses.

Key words:

Durum wheat, water stress, thermal stress, ABA, HPLC, stomatal resistance, SDS-PAGE electrophoresis.

تركيز حمض الأبسيسيك تحت الإجهاد المائي و الحراري و دراسة الليات مقاومة اربع اصناف من القمح الصلب

الملخص

يعتبر القمح الصلب زراعة استراتيجية في الجزائر. ومع ذلك، فإن نموها وتحسين أدائها يبقى محدود بسبب نقص المياه ودرجات الحرارة الغير منتظمة

تشكل دراستنا جزءا من البحوث متعددة التخصصات التي تستهدف سلوك أربعة أنماط وراثية من القمح الصلب تحت مستويين من الإجهاد المائي و الحراري

Simeto, Ofonto, Boussallem et Hedba3 تمت زراعتهم في وسط مائي حيث طبق عليهم إجهاد مائي لمدة 4 ساعات و24 ساعة بالإضافة الى الإجهاد الحراري تحت 4 درجة مئوية و 45 درجة مئوية بعد ظهور الورقة الرابعة لأداء مجموعة من القياسات: محتوى حمض الأبسيسيك في أوراق وجذور النباتات المجهد، مقاومة خلايا الثغور، استقرار الغشاء، محتوى الرطوبة النسبية مساحة الورقة، و البروتينات الكلية للأوراق

أظهرت النتائج أن تحمل القمح الصلب الإجهاد الماء والحرارة ناجم عن العديد من آليات الحماية التي تتناسب مع شدة الإجهاد ومدته وعلاوة على ذلك، فإن الأصناف الأربعة تتبع نفس استراتيجيات مقاومة أو تجنب مختلف الضغوط غير الحيوية

الكلمات الرئيسية

القمح الصلب، الإجهاد المائي، الإجهاد الحراري، حمض الأبسيسيك، HPLC، SDS-PAGE، مقاومة خلايا الثغور

Liste des abréviations

ABA : Acide abscissique

BD : solution nutritive de *Broughton et Dillworth*

CG : Chromatographie Gazeuse

H': Stress hydrique de 4heures

H'': Stress hydrique de 24heures

HPLC : Chromatographie Liquide à Haute Performance

IPP: isopentenyl diphosphate

ITGC : Institut Technique des Grandes Cultures

LC : Chromatographie Liquide

NSY: Néoxanthine Synthase

PF : Poids Frais

PM : Poids Moléculaire

PS : Poids Sec

PT : Poids de Turgescence

rpm : rotation par minute

SDR: Short-Chain **D**ehydrogenase/**R**eductase

SDS-PAGE : Sodium dedocyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis

SF : Surface foliaire

T : témoin

t' : Stress thermique à 4°C

t'' : Stress thermique de 45°C

TRE : Teneur Relative en Eau

V1: Simito

V2: Ofanto

V3: Boussellam

V4: Hedba3

ZEP: Zéaxanthine Epoxidase

KDa: kilo dalton

Liste des figures

Figure 1 : Formule semi-développée de l'acide abscissique.....	5
Figure 2 : Biosynthèse de l'ABA.....	7
Figure. 3 : Métabolisme de l'acide abscissique	9
Figure 4: Modèle de voie de signalisation dépendante de l'ABA.....	16
Figure 5 : Mécanismes d'action des cellules de garde face au déficit hydrique	17
Figure 6 : Germination des graines	27
Figure 7 : Dispositif de l'essai	28
Figure 8 : Application du stress hydrique	30
Figure 9 : Application du stress thermique à 45°C	31
Figure 10 : Application du stress thermique à 4°C.....	31
Figure 11 : Mesure de la résistance stomatique	32
Figure 12 : Mesure de l'intégrité cellulaire.....	33
Figure 13 : Système d'HPLC.....	34
Figure 14 : Chromatogramme de l'acide abscissique.....	34
Figure 15 : Dilution en cascade de la solution mère d'acide abscissique	36
Figure 16 : La migration des protéines totales sur gel d'acrylamide.	37
Figure 17 : Variation de la surface foliaire des quatre génotypes de blé dur soumis à deux traitements de stress abiotique : (A) stress hydrique et (B) stress thermique.	40
Figure 18 : Variation de la teneur relative en eau foliaire des quatre génotypes de blé dur soumis à deux traitements de stress abiotique : (A) stress hydrique et (B) stress thermique.	42
Figure 19 : variation de la résistance stomatique des quatre génotypes de blé dur soumis à deux traitements de stress abiotique : (A) stress hydrique et (B) stress thermique.....	45
Figure 20 : Variation de la stabilité membranaire des quatre génotypes de blé dur soumis à deux traitements de stress abiotique : (A) stress hydrique et (B) stress thermique.....	48
Figure 21: Variation de la teneur en ABA dans les racines (A) et les feuilles (B) des quatre génotypes de blé dur soumis à deux niveaux de stress hydrique.	51
Figure 22 : Variation de la teneur en ABA dans les racines (A) et les feuilles (B) des quatre génotypes de blé dur soumis à deux niveaux de stress thermique.....	52
Figure 23 : Profil électrophorétique SDS-PAGE des protéines totales des feuilles de deux variétés de blé dur.....	54

Liste des tableaux

Tableau 1 : Caractéristiques des variétés étudiées :	26
Tableau 2 : Composition de la solution nutritive	29
Tableau 3 : Diagramme présence/ absence des bandes dans les feuilles de deux variétés de blé dur soumis à deux stress abiotiques.....	51

Sommaire

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

Chapitre I : Revue bibliographique

I. Généralités sur l'hormonologie végétale	3
1. Notion d'hormone et hormones végétales.....	3
2. Les différents types d'hormones végétales	3
II. L'acide abscissique et réponse aux stress abiotiques.....	4
1. Historique et découverte de l'ABA.....	4
2. Structure de la molécule.....	5
3. Métabolisme de l'acide abscissique	6
3.1 Biosynthèse de l'ABA	6
3.2. Catabolisme de l'ABA	7
3.3 Régulation métabolique de l'ABA.....	8
4. Localisation et transport de l'ABA	9
5. Rôles de l'acide abscissique.....	11
5.1. Une hormone majeure pour les semences	11
5.2. Un effet ambigu sur la croissance	11
5.3. Effet sur la réponse aux pathogènes	12
5.4. L'acteur principal de la tolérance aux stress abiotiques	12
6. Effet physiologique et mécanisme d'action de l'ABA au sein d'un stress abiotique :.....	13
6.1. Transduction du signal	13
6.2. La perception du stress abiotique :	13
6.3. Régulations transcriptionnelles	14
6.4. Récepteurs et voies de signalisation de l'ABA:	14
6.5. Effet physiologique de l'ABA:.....	16
7. Méthodes d'études de l'ABA et de son mécanisme d'action :	19
III. Blé dur, changement climatique et expression génétique:	19
1. Les contraintes de la production du blé dur :	19
1.1. Le stress hydrique :	21
1.2. Le stress thermique :	22
2. L'ABA et l'amélioration de la tolérance du blé dur :	23
3- Expression des protéines sous conditions de stress environnementaux.....	24
3.1. Les protéines HSP.....	24
3.2. Les protéines LEA.....	25

Chapitre II: Matériel et méthodes

1) Matériel végétal	26
2) Mise en place de l'essai	27
3) Conduite de l'essai et stade de mesure	27
4) Le plan d'expérimentation	27
4.1) Germination des graines et mise en culture hydroponique	27
4.2) Préparation de la solution nutritive :	28
5) Répartition des plantules et stress appliqués	29
5.1) Application du stress hydrique :	30
5.2) Application du stress thermique :	30
6. Les paramètres étudiés :	31
6.1) Paramètres morphologique :	31
6.1.1) Mesure de la surface foliaire :	31
6.2) Paramètres physiologique	31
6.2.1) La teneur relative en eau (TRE %) :	31
6.2.2) La résistance stomatique :	31
6.2.3) L'intégrité membranaire :	32
6.3) Paramètres biochimique :	33
6.3.1) Dosage de l'acide abscissique par la technique de chromatographie liquide à haute performance (HPLC) :	33
6.3.2) Analyse des protéines totales par technique de SDS-PAGE :	36
7. Traitement des données	38

Chapitre III : résultats et discussion

1. Paramètres morphologiques :	39
1.1. Analyse de la surface foliaire SF (cm ²):	39
2. Paramètres physiologiques :	41
2.1. Analyse de la teneur relative en eau :	41
2.2. Analyse de la résistance stomatique :	44
2.3. Analyse de l'intégrité membranaire :	47
3. Paramètres biochimiques :	49
3.1. Dosage de l'acide abscissique par la technique d'HPLC :	49
3.2. Analyse des protéines totales :	53
Conclusion	57
Références bibliographiques	59
Annexes	

Introduction

Introduction

Malgré les progrès des dernières décennies en matière d'agronomie, l'actualité récente a montré qu'il n'était pas encore possible d'assurer une production agricole suffisante pour la population mondiale.

En région méditerranéenne, la pluviométrie et la température sont sujettes à de grandes variations intra et inter annuelles, qui affectent sérieusement les rendements. Le manque d'eau reste le facteur le plus limitant auquel fait face les cultures en particulier celles des céréales, quoique des études récentes montrent que les basses températures hivernales et printanières constituent un facteur non négligeable à prendre en considération dans les programmes d'amélioration.

Il est donc crucial d'une part, d'arriver à exploiter toutes les surfaces agricoles, y compris celle où ces contraintes abiotiques sont critiques et qui ne cessent d'augmenter avec le réchauffement climatique et d'autres part, de chercher dans le germoplasme Algérien les espèces et les variétés les plus efficaces en conditions environnementales limitantes.

L'acclimatation et l'adaptation des plantes aux contraintes abiotiques ont été largement étudiées et plusieurs mécanismes permettant aux plantes de résister à la sécheresse ont été décrits. Le blé qui occupe une place stratégique dans le système alimentaire et dans l'économie nationale, la réponse de son génotype face aux stress abiotique a été étudié intensivement, par l'étude du changement de leurs processus métaboliques et physiologiques et les modifications morphologiques des parties aériennes et du système racinaire. Ces mécanismes de réponse se font par une synthèse d'un large spectre de composés hormonaux diffusibles dont l'action coordonnée a pour objectif de réguler la croissance, le développement et la physiologie de la plante et d'adapter ces paramètres aux variations de l'environnement, parmi ces composés l'acide abscissique (ABA) (Casal, 2002; Peleg and Blumwald,2011).

ABA est l'une des cinq classes des phytohormones, découverte dans les années 60, connue aussi sous le nom de *abscine II* ou encore *dormine*. Elle joue un rôle central dans le contrôle des processus physiologiques des plantes, telles que l'inhibition ou la promotion de la croissance, le maintien de bourgeon et la dormance des graines et de la différenciation de la floraison. (Zhu, 2002).

L'accumulation de l'ABA dans les cellules augmente en réponse des stress abiotiques tels que la chaleur, le gel, la sécheresse ou déclenchement des réponses biochimiques spécifiques. Lorsque la contrainte est atténuée, l'hormone est métabolisée en produits inactifs (Seo et Koshiba, 2002).

Considéré comme un « inducteur de résistance au stress », l'ABA peut répondre rapidement aux divers stress environnementaux en provoquant la fermeture des stomates et l'activation de l'expression de gènes résistant à ces stress.

De nombreuses techniques d'analyse ont été utilisées pour détecter et quantifier l'ABA dans les tissus végétaux, la chromatographie liquide (LC) avec détection UV et la chromatographie gazeuse (GC) avec détection à capture d'électrons (GC -ECD), peuvent quantifier l'ABA libre et conjugué à l'ordre du nanogramme au microgramme ainsi que d'autres méthodes immunologiques telles que l'immunoradio affinité (Dobrev *et al.*, 2004).

La présente étude est une contribution à l'analyse de la réponse du blé dur aux conditions de sécheresse et de températures extrêmes de l'environnement par, principalement, la quantification de l'acide abscissique dans les racines et les feuilles en utilisant la chromatographie liquide à haute performance. Et la réalisation de différents tests physiologiques, morphologiques et biochimiques sur quatre génotypes de blé dur soumis sous différents niveaux de stress hydrique et thermique.

Ce mémoire est structuré en trois grandes parties :

- Une première partie qui représente une synthèse bibliographique qui se base essentiellement sur l'acide abscissique sa structure, ses rôles et sa biosynthèse, le stress et des généralités sur le blé dur.
- Une deuxième partie qui englobe la description du matériel végétal, les conditions de culture et les différentes méthodes utilisées pour exploiter ce travail.
- La troisième partie consacrée au traitement des résultats obtenus et leur discussion.
- Et finalement une conclusion suivie par la liste des références bibliographiques.

*Revue
bibliographique*

I. Généralités sur l'hormonologie végétale :

1. Notion d'hormone et hormones végétales:

La notion d'hormone (du grec hormao qui signifie exciter, terme qui a fait son apparition en 1905) s'applique à des substances organiques biologiquement actives et fait intervenir trois idées essentielles :

1. activité à de très faibles concentrations (aucun rôle énergétique ni nutritif),
2. synthèse par l'organisme lui-même,
3. transport du site de synthèse au site d'action où elle influence spécifiquement des cellules cibles. (Granell et Carbonell, 2009).

- Hormones végétales : composés organiques synthétisés par la plante avec de très faibles concentrations. Ils ont une action sur le métabolisme et le développement généralement dans des tissus différents du lieu de production. Les hormones végétales comme les hormones animales sont impliquées dans les communications intercellulaires. (Heller et *al.*, 2000)

Les phytohormones tout en présentant un certain nombre de points communs avec les hormones animales (perception, voies de transduction...), s'en distinguent par différents aspects (Granell et Carbonell, 2009) :

- Ce sont des molécules de faibles PM (< 500) liées aux difficultés de translocation de cellules à cellules,
- Leurs structures chimiques sont généralement différentes à l'exception des brassinostéroïdes voisins des stéroïdes animaux,
- Elles sont produites dans différentes régions de l'organisme (même si une zone de production majoritaire est fréquente) et actives à la fois au lieu de synthèse et à distance. Ce qui n'est pas le cas des hormones animales, où la distinction entre le site de production (ex : glande endocrine) et le site d'action est plus claire.

Enfin les hormones végétales agissent fréquemment de façon additive, antagoniste, ou en synergie sur divers phénomènes physiologiques (action moins ciblée que les hormones animales) (Klee et Romano, 1994).

2. Les différents types d'hormones végétales :

La véritable mise en évidence d'une hormone végétale remonte à 1926, il s'agit des travaux de WENT sur l'auxine. Jusqu'en 1950, on considéra que l'auxine représentait la seule phytohormone. Cependant, après cette date, d'autres hormones végétales ont été

découvertes, dont l'importance s'est confirmée avec les années. Chronologiquement, il s'agit des gibberellines (1950), des cytokinines (1955), de l'éthylène (1960), de l'acide abscissique (1965) et des brassinostéroïdes (1995) (Moore, 1989).

A l'heure actuelle, on connaît six types d'hormones végétales pour lesquels on peut distinguer : (Casal, 2002)

- Des hormones stimulatrices (qui induisent ou stimulent un phénomène physiologique):
 - Auxines
 - Gibberellines
 - Cytokinines
 - Brassinostéroïdes, pour lesquelles on observe des familles de molécules actives
- En parallèle on distingue des hormones à effets mixtes, comme (Peleg et Blumwald, 2011).
 - l'éthylène
 - l'acide abscissique, dans ce cas une seule structure active a été identifiée.

D'autres molécules ayant un rôle de «médiateur chimique» chez les végétaux, comme les polyamines, le jasmonate, le salicylate, les oligosaccharides ..., n'ont pas encore obtenu le statut d'hormone végétale vraie (Moore, 1989).

Dès sa découverte, l'acide abscissique a intéressé beaucoup de chercheurs grâce à son multiple rôle dans les différents mécanismes biochimiques et physiologiques des végétaux, notamment son interaction dans l'adaptation des plantes aux variations de l'environnement (Peleg et Blumwald, 2011).

II. L'acide abscissique et réponse aux stress abiotique :

1. Historique et découverte de l'ABA :

La découverte de l'acide abscissique est intéressante car elle a été réalisée simultanément par des chercheurs travaillant dans des laboratoires différents, sur des problèmes physiologiques distincts.

Dans les années 1960, WAREING et ses collaborateurs au Pays de Galles, avaient recherché la cause de l'arrêt de la croissance des arbres en automne et le facteur qui provoque la formation des bourgeons dormants. Ils obtinrent à partir des feuilles d'Acer, un extrait acide qui était un puissant inhibiteur de la croissance et qui, appliqué aux apex des

tiges feuillées, était capable d'induire la formation de bourgeons dormants. Ils appelèrent la substance active encore inconnue : la dormine.

ADDICOT et ses collaborateurs à l'Université de Californie DAVIS, se sont intéressés au problème de l'abscission des feuilles et obtinrent à partir du cotonnier deux substances abscissine I et abscissine II capables d'accélérer l'abscission des feuilles de jeunes plants de coton.

L'isolement de la dormine par CORNFORTH et al. (1966) a permis sa caractérisation chimique et fut suivie par des travaux qui montrèrent que dormine est un inhibiteur de croissance du Lupin et abscissine II, était en fait la même substance qui fut définitivement appelée acide abscissique en 1967.

Récemment, une série de découvertes a montré que l'ABA avait également un rôle dans le règne animal, où ses mécanismes d'action avaient des similitudes avec ceux décrits chez les plantes, ce qui suggère que cette hormone a pu apparaître avant même la séparation entre les métazoaires et les métaphytes (Wasilewska et al., 2008).

2. Structure de la molécule :

C'est un sesquiterpénoïde à quinze atomes de carbone (C₁₅) issu de la condensation des unités isoprènes (5 carbones). C'est une molécule dérivée des caroténoïdes, synthétisée par l'ensemble des végétaux ainsi que par quelques champignons (Kitagawa et al., 1995) et algues (Tietz et Kasprick, 1986). Il est un des acteurs majeurs de la signalisation dans la réponse des plantes aux contraintes abiotiques.

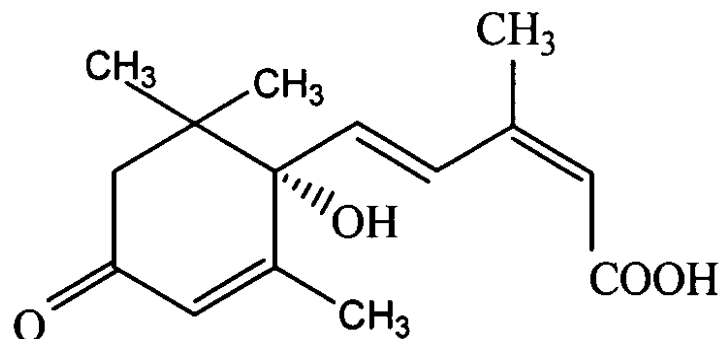


Figure 1 : Formule semi-développée de l'acide abscissique. D'après Jaspard, E. (2011).

3. Métabolisme de l'acide abscissique :

3.1 Biosynthèse de l'ABA :

L'acide abscissique dérive de la voie de synthèse des caroténoïdes (pigments à 40 C) synthétisés au niveau du chloroplaste à partir d'une molécule à 5 carbones qui est l'isopentenyl diphosphate (IPP) par des additions et isomérisations successives. Le premier d'entre eux est le phytoène qui est ensuite désaturé en lycopène. Deux cyclisations, à chaque extrémité de la molécule de lycopène, permettent de produire le β -carotène, qui est hydroxylé en zéaxanthine (Liotenberg et al., 1999). Ce dernier subit une conversion en violaxanthine catalysée en deux étapes par une activité Zéaxanthine Epoxidase (ZEP) (Nambara and Marion-Poll, 2005).

Toujours au niveau des plastides, une synthèse de la *trans*-néoxanthine à partir de la violaxanthine, est catalysée par une Néoxanthine Synthase (NSY). Cette réaction apporte les premiers éléments d'une réponse (North et al., 2007). La conversion des formes *trans* de néoxanthine en *cis*-néoxanthine et aussi la conversion des formes de *trans*-violaxanthine en *cis*-violaxanthine est vraisemblablement catalysée par une activité *trans-cis* isomérase, ensuite ces deux dernières formes sont clivées en xanthoxine (15 C), par une enzyme appelée 9-*cis* époxycaroténoïde dioxygénase (NCED) (Iuchi et al., 2001; Tan et al., 2003; Fan et al., 2009).

Un mécanisme de transport de la xanthoxine du chloroplaste doit exister dans la mesure où les NCED sont des enzymes chloroplastiques et où l'étape suivante de la synthèse d'ABA, se déroule au niveau du cytoplasme (Nambara and Marion-Poll, 2005).

L'ABA, forme biologiquement la plus active, est produit à partir de la *cis*-xanthoxine via deux réactions enzymatiques faisant intervenir l'aldéhyde abscissique comme intermédiaire réactionnel. Dans un premier temps, une déshydrogénation de la xanthoxine donne l'aldéhyde abscissique grâce à l'intervention de la protéine AtABA2 qui appartient à la famille des protéines de type SDR (Short-Chain Dehydrogenase/Reductase) (Cheng et al., 2002). Finalement, la conversion de l'aldéhyde abscissique en ABA est la dernière étape de la voie de biosynthèse de l'ABA, celle-ci résulte de l'activité oxydase de la protéine AAO3 (Abscisic Aldehyde Oxidase 3). (Seo et al., 2004) (Nambara and Marion-Poll, 2005).

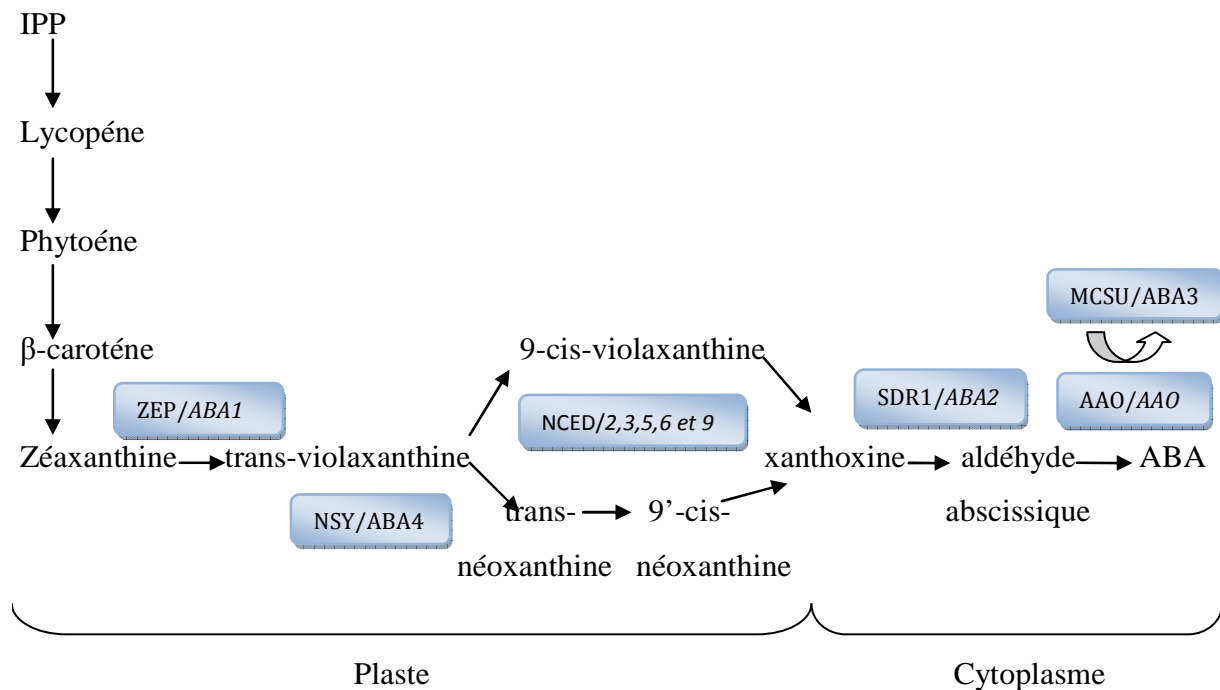


Figure 2 : Biosynthèse de l'ABA, d'après Wasilewska et *al.* (2008).

3.2. Catabolisme de l'ABA :

Le catabolisme de l'ABA repose sur deux types de réactions particulières : l'hydroxylation et la conjugaison.

Il existe trois voies d'hydroxylation de l'ABA, qui diffèrent par le groupement méthyle oxydé (sur les carbones 7', 8' ou 9'). La voie principale est celle de l'hydroxylation en 8' qui conduit après isomérisation, à la production des acides phaséique et dihydrophaséique, les deux catabolites majeurs de l'ABA qui sont biologiquement inactifs. La réaction d'hydroxylation en 8' est catalysée par une monooxygénase à cytochrome P450 codée par les gènes CYP707A chez *Arabidopsis thaliana* (Nambara and Marion-Poll, 2005).

Les fonctions carboxyle et hydroxyle de l'ABA sont susceptibles d'être glycosylées. Les formes glycosylées de l'ABA sont elles aussi inactives, dont la plus majoritaire d'entre elles est le glucose ester d'ABA (ABA-GE) (Todoroki et al., 2011).

L'inactivation de l'ABA par glycosylation est réversible avec une glucosidase capable d'hydrolyser l'ABA-GE dont l'action permet de contrôler de façon dynamique, la teneur en ABA dans différentes conditions (Lee et al., 2006).

3.3 Régulation métabolique de l'ABA :

L'accumulation d'ABA induite dans la plante, par une déshydratation, est due à la fois à une augmentation de sa biosynthèse et à des modifications dans son catabolisme, régulé par le stress de façon plus subtile, qu'un simple ralentissement de la dégradation.

L'étape la plus importante pour augmenter la biosynthèse de l'ABA semble être le clivage des caroténoïdes. Chez l'Arabidopsis, le gène NCED3 paraît crucial dans cette étape limitante lors d'une déshydratation : il est plus fortement induit que les autres NCED en réponse à ce stress (Tan et *al.*, 2003) et sa surexpression augmente nettement la biosynthèse de l'ABA et la tolérance à la déshydratation, tandis que sa sous-expression a l'effet inverse (Iuchi et *al.*, 2001).

L'accumulation d'ABA ne résultant pas seulement d'une biosynthèse accrue, il semblerait logique que les différentes voies de son catabolisme soient inhibées par une déshydratation. En effet, lorsque la teneur en ABA augmente, celle en acide phaséique augmente également (Nambara and Marion-Poll, 2005) et les gènes responsables de l'hydroxylation de l'ABA sont induites par la déshydratation et l'ABA (Saito et *al.*, 2004).

Une étude plus précise sur ces gènes a montré qu'ils codaient pour l'hydroxylase majeure, la voie d'hydroxylation de l'ABA en réponse au stress, que ses induction par une déshydratation était lente et qu'il répondait aussi à une réhydratation (Umezawa et *al.*, 2006). Ceci suggère que l'hydroxylation est la voie qui permet d'inactiver l'ABA accumulé à la fin de la déshydratation.

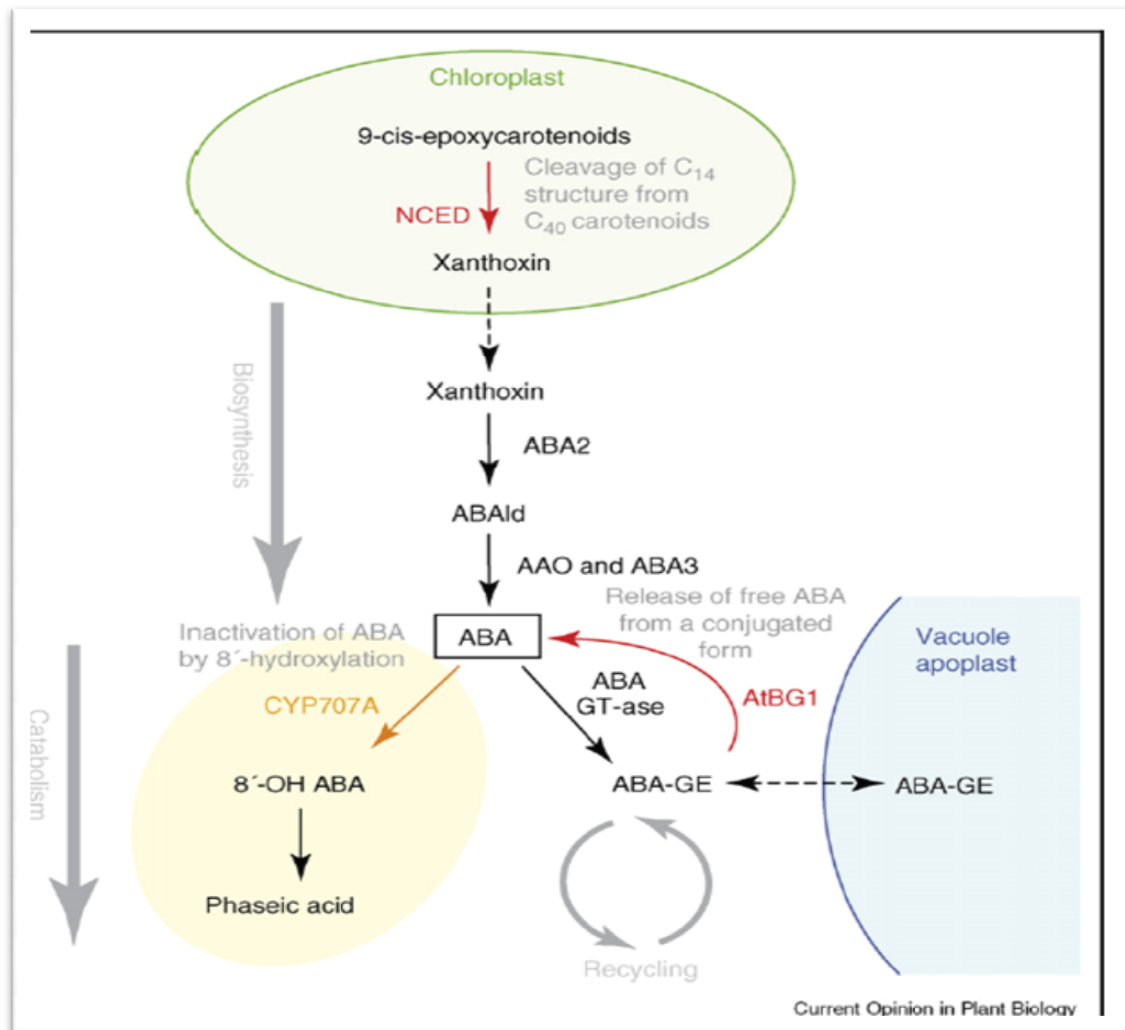


Figure 3 : Métabolisme de l'acide abscissique

4. Localisation et transport de l'ABA:

Dans les études physiologiques de l'ABA, la translocation et la communication de cette phytohormone entre les cellules, les organes et les tissus dans les plantes, jouent un rôle important dans les réponses de la plante (Shachtman et Goodger , 2008; Wilkinson et Davies , 2010) .

Par exemple, l'ABA est un régulateur clé de la feuille de conductance stomatique : dans des conditions de sécheresse, la concentration de l'ABA augmente dans le apoplaste, entraînant la fermeture des stomates (Schachtman et Goodger, 2008; Wilkinson et Davies, 2010).

La plupart des gènes et les facteurs identifiés à ce jour, dans la signalisation de l'ABA, sont principalement impliqués dans la régulation intracellulaire de celui-ci, alors que sa régulation intercellulaire n'a pas été étudiée chez des espèces végétales (Cutler *et al.*, 2010).

Ainsi, la base moléculaire de transport de l'ABA et de sa localisation doit être étudiées pour comprendre la communication intercellulaire ABA de la plante entière (Kim *et al.*, 2010).

Les phénomènes de perception du signal permettent de rendre compte du transport intercellulaire/intertissulaire de l'ABA. En présence de deux compartiments de pH contrastés séparés par une membrane, un flux d'ABA va s'établir du compartiment acide vers le compartiment basique où il est en quelque sorte « piégé » (Jiang et Hartung, 2008).

Ainsi, l'élévation du pH apoplastique et en particulier celui de la sève xylemienne en situation de stress, va largement contribuer à induire la sortie d'ABA des cellules racinaires et à la translocation d'ABA dans les parties aériennes. De la même façon, dans les cellules foliaires, l'acidification du stroma des chloroplastes va induire un efflux d'ABA (synthétisé dans les chloroplastes comme on l'a vu) vers le cytoplasme, puis vers l'apoplaste. (Wilkinson et Davies, 2010).

L'étude de la relation entre la concentration ABA xylème et la conductance foliaire chez les espèces ligneuses et herbacées provenant de différents habitats, a révélé que les réactions stomates sont toujours beaucoup mieux corrélée avec la concentration de l'ABA dans le xylème que dans les feuilles, soulignant l'importance de l'ABA comme hormone de signal à longue distance dans le xylème (Heilmeyer *et al.* , 2007).

La signalisation de l'ABA à longue distance a été examinée dans des études récentes. Dans des conditions de stress modéré, lorsque le sol commence à sécher, et le potentiel de l'eau des feuilles n'est pas ou peu touchés, l'ABA s'accumule dans les tissus des racines ; il est libéré par les vaisseaux du bois et transporté à la pousse, où les activités de stomates et de méristématiques sont régulées pour aider la plante à faire face au stress (Jiang et Hartung, 2008).

Les racines sont les premiers organes concernés par le stress de carence hydrique, mais la réponse précoce la plus facile à mettre en évidence est la fermeture des stomates(Schachtman et Goodger, 2008).

5. Rôles de l'acide abscissique :

Comme les autres phytohormones, l'acide abscissique a de multiples fonctions dans les plantes. La détermination de ces fonctions a d'abord été basée sur l'observation des variations de concentration d'ABA endogène et des réponses à l'application d'ABA exogène. La génétique, via l'isolement de nombreux mutants de biosynthèse et de signalisation de l'ABA chez de nombreuses espèces, a permis de confirmer ces rôles biologiques (Belin, C., 2006).

5.1. Une hormone majeure pour les semences :

L'ABA commence à s'accumuler dans la graine, lorsque celle-ci entame sa maturation, c'est-à-dire au moment où les cellules de l'embryon arrêtent de se multiplier pour grossir. Un premier pic d'ABA d'origine maternelle permet d'empêcher la germination de l'embryon avant que celui-ci ne soit mature. Un deuxième pic, lors duquel l'ABA est cette fois synthétisé par l'embryon, induit la dormance de la graine (Lefebvre., 2005).

La maturation de la graine est également caractérisée par une accumulation des réserves et l'acquisition de la tolérance à la dessiccation. Ces deux processus sont principalement mis en place par l'induction de gènes, sous le contrôle de divers facteurs de transcription impliqués dans les voies de signalisation de l'ABA (ABI3, ABI4, ABI5) et d'autres, plus spécifiques de la graine (LEC1 (leafy cotyledon), LEC2, FUS3 (fusca)) (Finkelstein et *al.*, 2002).

Un équilibre entre les effets inhibiteurs de l'ABA et les effets inducteurs des acides gibbérelliques contrôle la germination de la graine mature. Ainsi, une quantité, même faible d'ABA exogène, ou bien un inhibiteur de la synthèse des gibbérellines empêchent la germination de la graine (Finkelstein et *al.*, 2008).

5.2. Un effet ambigu sur la croissance.

Une concentration élevée en ABA, y compris en ABA exogène, a un effet inhibiteur sur la croissance dû à la fois à une diminution de l'extensibilité cellulaire et à une inhibition de la division cellulaire (Liu et *al.*, 1994). Néanmoins, le fait que les mutants déficients dans la synthèse de l'ABA, présentent une croissance réduite (même en l'absence de stress) montre qu'à une plus faible concentration, l'ABA a un effet positif sur la croissance (Barrero et *al.*, 2005). Il est possible que le nanisme des plantes déficientes en ABA soit causé par une plus grande concentration en éthylène, l'accumulation de celui-ci étant en temps normal, inhibée par l'ABA (Finkelstein et *al.*, 2002).

Cette bivalence de l'effet de l'ABA est également observée dans la croissance racinaire. Lorsqu'il est suffisamment concentré, l'ABA joue le rôle d'antagoniste de l'auxine, en inhibant l'élongation de la racine, mais à de plus faibles concentration, l'ABA peut induire la croissance des racines (Himmelbach et *al.*, 1998).

5.3. Effet sur la réponse aux pathogènes.

La réponse des plantes aux pathogènes est contrôlée par un réseau de signalisation complexe mettant en jeu les actions antagonistes et synergiques de trois hormones principales : l'acide salicylique (SA), l'acide jasmonique (JA) et l'éthylène. (Jalloul et *al.*, 2009)

Des études récentes ont montré que l'ABA participait également aux voies de signalisation du stress biotique, mais son rôle n'a pas encore pu être défini avec précision. Face à l'attaque par de nombreux pathogènes, des mutants déficients en ABA gagnent en résistance alors qu'une augmentation de la concentration en ABA semble provoquer une plus grande sensibilité.

Il semble donc que l'ABA ait un effet négatif sur la résistance au stress biotique (Mauch-Mani and Mauch, 2005). Les mécanismes de cette action restent encore mal élucidés, mais les premiers éléments de réponse montrent que l'ABA agirait de façon antagoniste sur les voies de signalisation de l'acide salicylique (Mauch-Mani and Mauch, 2005) et du méthyl-jasmonate (Anderson et *al.*, 2004).

Il apparaît de plus en plus clairement que les voies de signalisation de l'ABA et du stress biotique sont interconnectées à plusieurs niveaux : ils partagent des éléments de signalisation, tels que le facteur de transcription AtMYC2 (Anderson et *al.*, 2004), les MAPK (mitogen-activated protein kinase) ou les dérivés actifs de l'oxygène (Fujita et *al.*, 2006). De plus, il existe un nombre non négligeable de gènes (dépendant du type de pathogènes) répondant à la fois à l'ABA et au stress biotique.

La détermination du rôle de l'ABA en réponse au stress biotique est compliquée par le fait qu'il semble dépendre du pathogène (Mauch-Mani and Mauch, 2005).

5.4. L'acteur principal de la tolérance aux stress abiotiques.

La sécheresse, une forte salinité du sol et le froid sont des conditions environnementales défavorables auxquelles la plante doit s'adapter. Ce sont les stress abiotiques auxquels la plante est le plus souvent confrontée, qui sont les plus étudiés. Ils

conduisent tous à un déficit hydrique cellulaire, c'est pourquoi leurs voies de signalisation ont de nombreux éléments communs. (Gravot, 2009). En particulier, chacun d'entre eux peut provoquer l'augmentation de la teneur en ABA dans la plante : c'est l'hormone principale permettant de réguler la tolérance à ces stress.

Un de ses rôles principaux est de maintenir l'homéostasie osmotique des cellules, grâce à la fermeture des stomates et à l'induction de gènes de tolérance au stress hydrique.

La réponse aux stress abiotiques est souvent considérée comme le rôle majeur de l'ABA. Cette assertion est justifiée par le fait que le phénotype principal des mutants déficients en ABA est leur sensibilité au stress hydrique (Zhu, 2002).

6. Effet physiologique et mécanisme d'action de l'ABA au sein d'un stress abiotique.

6.1. Transduction du signal

Les végétaux perçoivent les signaux environnementaux et les transmettent à la cellule pour activer des mécanismes de réponses. La voie de transduction du signal commence par sa perception au niveau de la membrane végétale, suivie par la production de seconds messages et de facteurs de transcription. Ces facteurs contrôlent alors l'expression des gènes impliqués dans la réponse au stress, incluant des changements morphologiques, biochimiques et physiologiques (Roeder, 2006).

6.2. La perception du stress abiotique :

La perception du stress abiotique est encore mal connue. Par contre, on sait que les premiers évènements cellulaires sont :

- Une élévation du pH apoplastique dans les racines,
- Une acidification du stroma des chloroplastes dans les feuilles lié à une baisse des activités photosynthétiques. (Gravot, 2009)

D'un point de vue temporel, la signalisation du stress commence par sa perception, puis des changements de concentration en Ca^{2+} et l'accumulation de messagers parmi lesquels on peut inclure l'ABA, induisent des cascades de phosphorylation/déphosphorylation qui modulent l'action de facteurs de transcription pour aboutir à des changements d'expression des gènes de réponse au stress (Xiong et al., 2002).

6.3. Régulations transcriptionnelles

Les modifications post-transcriptionnelle et traductionnelle représentent les mécanismes de régulation (synthèse ou dégradation) des transcrits mRNA et des protéines des molécules cibles. Le mécanisme par lequel les plantes perçoivent le stress, est moins bien connu. La nature et la localisation des détecteurs primaires (le système d'alerte) sont également inconnues, bien que l'on pense qu'ils soient localisés au niveau de la membrane tout comme les autres récepteurs actuellement identifiés dont entre autres les récepteurs pour l'éthylène, lumière rouge et bleue et le Ca²⁺ (Sanders *et al.*, 1999 ; Knight, 2000).

La perception du stress est suivie par l'activation dans le noyau, des facteurs de transcription (TF) qui régulent l'expression des gènes responsifs au stress. Les facteurs de transcription, dits trans-éléments, sont des protéines régulatrices qui se positionnent près des régions promotrices des gènes cis- éléments qu'ils régulent. Les promoteurs qui sont des séquences d'ADN sur lesquelles sont fixés les cis- éléments reconnaissables par les TF et les cis- éléments, sont impliqués dans la réponse aux stress et ont été identifiés chez plusieurs espèces (Mastrangelo *et al.*, 2005 ; Shinozaki et Yamaguchi-Shinozaki, 2007).

Deux voies de régulation de l'activité de transcription existent en réponse aux stress hydrique et au froid. La voie ABA- dépendante, dont les gènes concernés sont régulés par l'accumulation de l'ABA durant le stress et la voie ABA- indépendante dont les gènes concernés ne sont pas influencés par l'accumulation de l'ABA (Yamaguchi-Shinozaki and Shinozaki, 2003).

La dernière étape de la réponse moléculaire aux stress se traduit donc par l'expression des gènes spécifiques qui codent pour la synthèse des protéines impliquées directement dans la tolérance au stress. Ces gènes aux différentes fonctions sont induits ou réprimés par le stress (Yamaguchi-Shinozaki et Shinozaki, 2005).

6.4. Récepteurs et voies de signalisation de l'ABA:

Le récepteur de l'ABA est de type tyrosine kinase. Il est constitué de deux protéines avec une partie extracellulaire, qui reconnaît le ligand, une partie transmembranaire et une partie intracellulaire avec une histidine kinase. Lors de la fixation, il existe une autophosphorylation entre les histidines kinase. Le phosphate est transféré à un aspartate puis, de part en part, il y a transmission de l'information (Park *et al.*, 2009).

La phosphorylation consécutive des protéines se déclenche quand l'ABA se fixe sur son récepteur. Il y a activation des protéines G activant la phospholipase C, qui va

hydrolyser les phospholipides membranaires pour donner l'IP3. Ce dernier est considéré comme un second messenger (Pandey et *al.*, 2006).

Sur les membranes des vacuoles, il existe des récepteurs à l'IP3, ce qui va permettre l'activation des canaux calciques. On observe une sortie de calcium de la vacuole et une augmentation de la concentration de calcium dans le cytoplasme. L'augmentation de la concentration en calcium provoque l'arrêt des pompes ATPases. Si elles ne fonctionnent plus, il n'y a pas de sortie de protons donc les charges positives s'accumulent dans la cellule ce qui entraîne une dépolarisation. Il y'a de plus, une sortie de potassium et une inhibition du canal potassique entrant. Ces canaux sont régulés par l'état de polarisation de la membrane. S'il y a sortie massive de potassium, il y a une sortie d'eau : donc fermeture des stomates (McAinsh et *al.*, 2001).

Lorsqu'il n'y a plus de perception du stress, il n'y a plus d'ABA, donc plus d'augmentation de calcium, les pompes ATPases se remettent en route, on a une hyperpolarisation de la membrane, une entrée de potassium donc une entrée d'eau et turgescence (Kudla et *al.*, 2010)

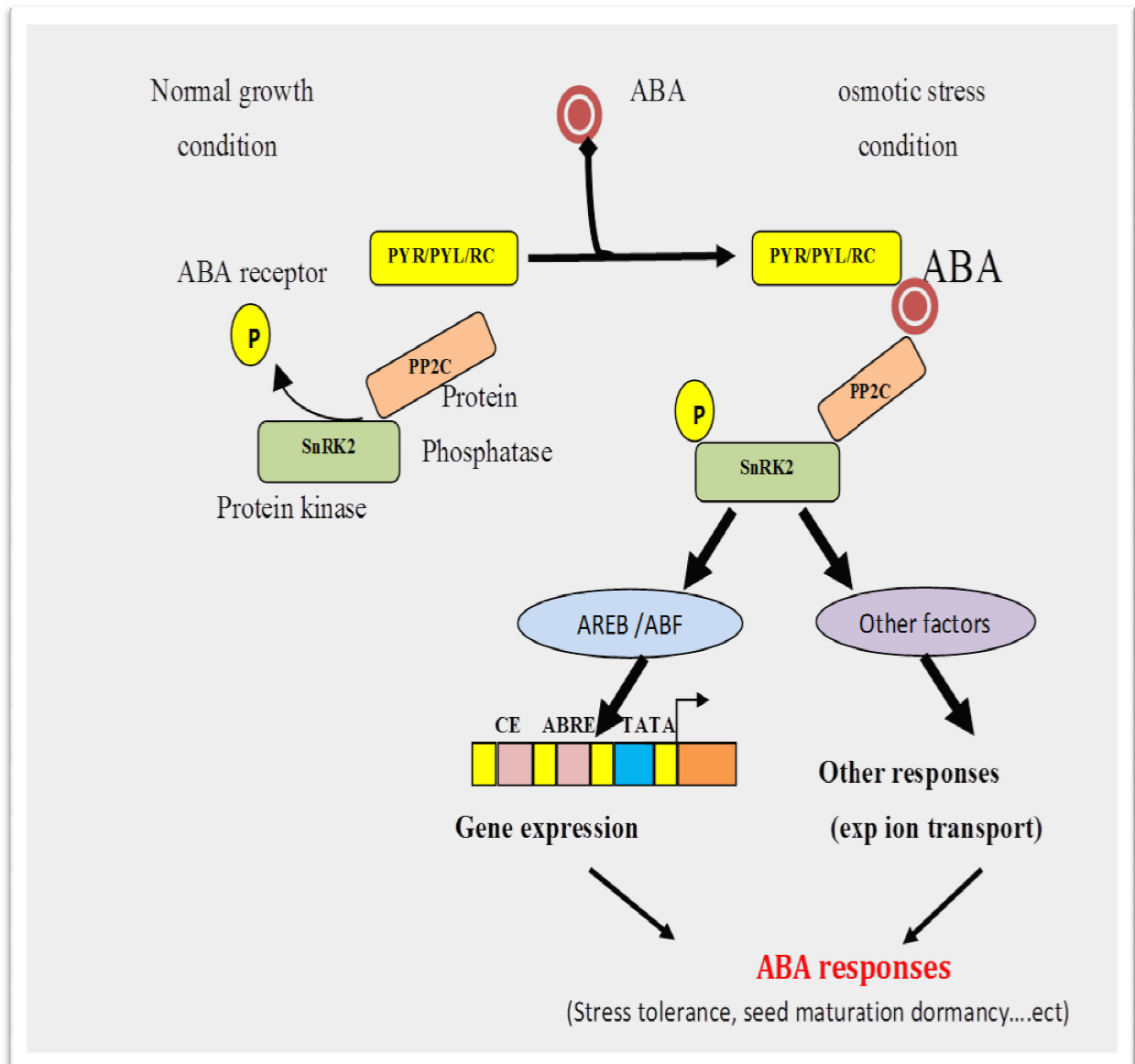


Figure 4: Modèle de voie de signalisation dépendante de l'ABA (D'après Nakashima et Yamaguchi-Shinozaki, 2013).

6.5. Effet physiologique de l'ABA.

- **Action sur la fermeture des stomates.**

Il s'agit d'un phénomène très important au plan physiologique puisqu'il permet de contrôler les pertes d'eau de la plante et de maintenir l'homéohydrie. C'est un exemple de réponse rapide à l'hormone de l'ABA de l'ordre de quelques minutes.

Les stomates sont des pores microscopiques situés sur les feuilles. Ils sont formés par deux cellules de garde jointives qui, selon leur état de turgescence, vont modifier la taille du pore. (Casson et Hetherington, 2013).

L'effet de plusieurs facteurs agissant sur l'ouverture stomatique a été montré : l'augmentation de l'irradiation a pour conséquence d'ouvrir les stomates tandis que l'augmentation de la concentration en CO₂ ou du déficit de vapeur dans l'air induisent un processus inverse (Hinckley et Braatne, 1994).

De nombreuses études ont mis en évidence des facteurs internes à la plante agissant sur les processus de régulation stomatique. Néanmoins, le mécanisme d'action de l'ABA sur la fermeture des stomates a été étudié via des mesures électrophysiologiques au niveau des canaux ioniques. (Jiang, et *al.* 2012). Son effet en tant qu'un inducteur de la fermeture stomatique, a été largement documenté, mais il y a encore des incertitudes sur son origine et sur sa contribution exacte à ce phénomène (Dreyer, 1997). On a montré que l'ABA active un canal calcique du plasmalemme, ce qui entraîne un accroissement en calcium cytoplasmique qui secondairement induit l'ouverture d'un canal potassique sortant, de canaux anioniques et la fermeture canal K⁺ entrant. Le résultat global est une fuite de K⁺ et la fermeture des stomates (Kim et *al.*, 2010).

Le signal de la fermeture stomatique en conditions de sécheresse a été attribué à une production de l'acide abscissique (ABA) par les racines (Meinzer et Grantz, 1990), mais l'état hydrique de la plante entière reste un facteur important à considérer, car il intervient sur la sensibilité des stomates à la concentration d'ABA (Salah et Tardieu, 1997).

Différentes études pharmacologiques à l'aide d'inhibiteurs de Kinases ou de phosphatases, ont montré que ce mécanisme fin et complexe fait intervenir des phénomènes de phosphorylation / déphosphorylation. De plus, d'autres travaux ont montré que le récepteur à l'ABA était sur la face extérieure de la membrane plasmique, mais la structure moléculaire de récepteur n'est pas connue (Kim et *al.*, 2010).

Chez les céréales, Davies & *al.*, (1994) ont montré que la fermeture des stomates est contrôlée par l'acide abscissique en réponse à l'assèchement du sol. Mais les sélections réalisées sur l'accumulation de l'ABA dans les céréales n'ont pas conduit à une amélioration du rendement.

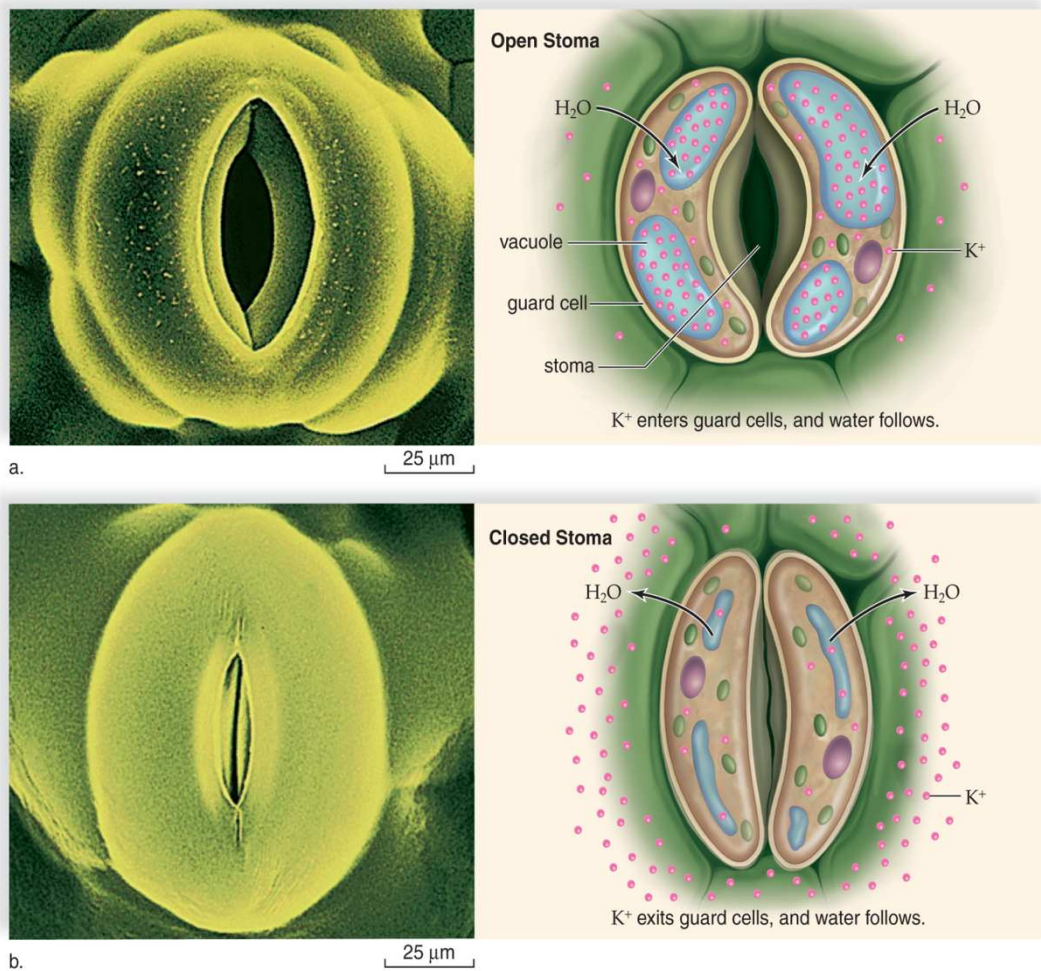


Figure 5 : Mécanismes d'action des cellules de garde face au déficit hydrique

Ce modèle simplifié se concentre sur la fonction des canaux ioniques et la transduction du signal ABA à travers les membranes plasmiques et vacuolaires dans les cellules de gardes.

7. Méthodes d'études de l'ABA et de son mécanisme d'action :

Bien que l'amélioration des méthodes de profilage ciblé et de la détermination de bas niveau de l'ABA et ses catabolites de petites quantités soit nécessaire pour améliorer les performances et la productivité des plantes, de nombreuses techniques d'analyse et approches biotechnologiques ont été utilisées pour détecter et quantifier ces niveaux dans les tissus végétaux (Kantety *et al.*, 2005).

a.Approches biochimiques

Elles sont utilisées pour le dosage des hormones, la mesure d'activité des enzymes des voies de synthèse, caractérisation biochimique des récepteurs...etc.

Historiquement trois méthodes ont été retenues pour l'examen du cas particulier du dosage des hormones (Zhou *et al.*, 2003).

1) les tests biologiques sensibles, peu spécifiques parfois complexes à mettre en œuvre.

2) les méthodes physico-chimiques sensibles et spécifiques, mais demandant une instrumentation lourde (HPLC –GC – spectrométrie de masse) :

- La chromatographie en phase gazeuse (GC) est un outil puissant en raison de sa sensibilité. Cependant, parce que cette analyse nécessite de renforcer la volatilité et la sensibilité, une attention particulière doit être prise dans la conception de méthodes de purification et de dérivation si l'on veut distinguer les formes conjuguées d'acides libres.

- La spectrométrie de masse (MS) est une autre technique de détection très spécifique pour la détermination de l'analyte. La MS couplée à la GC (GC-MS) donne une technique bien connue pour la détermination de l'ABA. C'est également le cas pour la Chromatographie en phase liquide - électrospray spectrométrie de masse en tandem (LC-ESI-MS/MS).

- Et plus récemment, la chromatographie liquide à haute performance en phase inverse (HPLC), une méthode sensible et robuste, a été utilisée pour détecter spécifiquement la quantification précise de l'ABA endogène dans les tissus végétaux. Cette technique est prometteuse en raison de son haut pouvoir de résolution, une excellente sensibilité et une faible consommation d'échantillons.

3) les tests immunochimiques ou radioimmunoessais ultrasensibles et très spécifiques, exigeant des anticorps vis-à-vis des hormones et une hormone sous forme radioactive (expériences de compétition).

b. Approches de biologie moléculaire et de génie génétique.

Elles sont utiles pour la :

- Caractérisation des gènes impliqués dans les voies de biosynthèse des hormones, des gènes qui répondent à l'application d'hormones (Northern blot, RT – PCR, hybridation in situ...etc) (Tardieu et *al* 2006).
- Analyse des promoteurs des gènes répondant aux hormones : éléments cis / facteurs trans.
- Recherche de gènes par la technique de « promoteur trapping »
- Modulation des taux d'hormones par génie génétique aspects fondamentaux et appliqués, y compris l'utilisation de promoteurs spécifiques (Kantety et al., 2005).

c. Approche génétique.

Il s'agit de caractériser des mutants de sensibilité aux hormones et des mutants de production d'hormones (Tardieu et *al* 2006).

d. Approche pharmacologique :

Elle est basée sur l'apport de drogues, des inhibiteurs y compris par microinjection pour disséquer les étapes des voies de transduction du signal hormonal (Kantety et *al.*, 2005).

III. Blé dur, changement climatique et expression génétique.

Comme pour toutes les plantes, l'acide abscissique interagit dans les réponses du blé dur aux contraintes abiotiques et au changement climatique. L'importance alimentaire et économique de cette espèce fait d'elle une cible très intéressante dans les recherches de la sélection des plantes se basant sur leur adaptation aux stress environnementaux surtout les stress hydrique et thermique qui sont les premiers limiteurs de la culture du blé dur dans notre pays (Bouzerzour H., 2002).

1. Les contraintes de la production du blé dur.

Le rendement national de la culture du blé est le plus faible du bassin méditerranéen (Ait kaki Y., 2007). La majeure partie des emblavures se trouve localisée sur les hautes plaines caractérisées par l'altitude, des hivers froids et un régime pluviométrique insuffisant et irrégulier. La pluviométrie et les températures sont sujettes à de grandes variations intra et inter-annuelles qui affectent sérieusement les rendements. (Ait kaki S., 2008). Aussi et pour toutes ces raisons que nous avons choisi de travailler sur ces deux contraintes : hydrique et thermique.

1.1. Le stress hydrique.

1.1.1. Notion du stress hydrique.

Lorsque l'absorption ne peut satisfaire la demande de la transpiration, alors le stress hydrique s'installe. L'installation d'une sécheresse se manifeste par la combinaison d'une part, de la restriction de la disponibilité en eau du sol et, d'autre part, de l'augmentation de la demande évaporatrice (Kiani, 2007).

En effet, Passioura (2004) définit le déficit hydrique comme étant les circonstances dans lesquelles les plantes accusent une réduction de croissance et de production soit suite à une alimentation hydrique insuffisante ou soit à un excès d'eau dans les sols

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, du phénotype et des caractéristiques du milieu (type de sol, température, vent, etc.) (LAMAZE *et al.*, 1994). L'effet de ce stress dépend de son degré, sa durée, du stade de développement de la plante, le génotype et son interaction avec l'environnement (YOKOTA *et al.*, 2006).

1.1.2. Effet du stress hydrique sur le blé.

Le manque d'eau ou déficit hydrique, représente le stress abiotique le plus sévère auquel la culture du blé dur fait face dans les conditions de productions des zones arides et semi- arides (Chennafi *et al.*, 2006). En effet, l'eau joue un rôle essentiel dans la croissance et le développement de la culture du blé dur. Le manque d'eau se traduit par une réduction de la croissance de la plante et de sa production par rapport au potentiel du génotype.

Un manque d'eau précoce affecte principalement la croissance des racines, le développement des feuilles et des organes reproducteurs (Debaeke *et al.*, 1996). Ceci se répercute sur le rendement économique de la culture, qui peut chuter de plus de 80% (Chennafi *et al.*, 2006).

L'effet du stress hydrique est différent selon les stades végétatifs. Au stade montaison, il provoque un arrêt de croissance des tiges, il s'ensuit une diminution du nombre de talles fertiles dont la conséquence est une réduction du nombre de grains /m². Vers le stade méiose-épiaison, c'est l'avortement des fleurs qui devient important (Debaeke *et al.*, 1996).

Au stade floraison, c'est la destruction des organes floraux qui prédomine et au cours du remplissage du grain, il y a une diminution du niveau et de la durée du palier hydrique, dont la conséquence est une chute de poids moyen du grain (Triboi, 1990). L'adaptation est un mécanisme nécessaire pour les variétés à adopter dans les régions arides et semi-arides, pour tolérer la sécheresse (Slama *et al.*, 2005).

1.2. Le stress thermique.

1.2.1. Notion du stress thermique.

Pour effectuer sa croissance et son développement, chaque plante exige une gamme bien particulière de températures. Chaque plante possède une température optimale de croissance et de développement, qui ne peuvent se dérouler qu'entre des limites supérieures et inférieures. Lorsque la température avoisine ces limites, la croissance diminue et au delà, elle s'annule (Hopkins, 2003).

Le stress thermique est souvent défini quand les températures sont assez hautes ou basses pendant un temps suffisant pour qu'elles endommagent irréversiblement la fonction ou le développement des plantes. Elles peuvent être endommagées de différentes manières, soit par des températures basses ou élevées de jour ou de nuit, par l'air chaud ou froid ou par les températures élevées du sol. La contrainte thermique est une fonction complexe qui varie selon l'intensité (degré de la température), la durée, les taux d'augmentation ou de diminution de la température (Oukarroum, 2007), le stage végétatif de la plante et l'interaction avec le stress hydrique. (Rawson *et al.*, 1993).

1.2.2. Effet du stress thermique sur le blé :

La température est un facteur important pour la durée de pré et de la post - anthèse. Le taux de développement des génotypes dans les durées de la pré –et de la post- anthèse sont différents en raison de la variation de la température selon les années et les environnements (Akkaya *et al.*, 2006). Dans les environnements méditerranéens, les hautes températures de fin de cycle sont considérées comme un facteur important de limitation de rendement. Des températures, au-dessus de 30°C, affectent le poids final de grain (Al-Khatib et Paulsen, 1984). L'effet des hautes températures peut modifier, non seulement le poids final de grain,

mais aussi le nombre de grains par épi et par unité de surface (Wardlaw *et al.*, 1989 ; Calderini *et al.*, 1999).

Pendant la période de tallage herbacé, des températures assez élevées, de l'ordre de 15-20°C, peuvent exercer un rôle favorable en permettant à la plante de produire un nombre de talles suffisants. En revanche pendant la phase de montaison, l'occurrence plus fréquente de températures élevées a une incidence défavorable sur la croissance des tiges (Gate, 1995).

Le blé dur est cultivé dans une large gamme d'environnements. Il a une adaptation la plus large (Briggle et Curtis, 1987). Cette adaptation est largement due, dans une large mesure, à la tolérance au froid, c'est-à-dire la capacité à supporter des températures bien inférieures à 4°C, considérée comme la température minimale pour la croissance. (Laala Z., 2009).

2. L'ABA et l'amélioration de la tolérance du blé dur.

L'adaptation se définit comme la capacité d'une plante à croître et à donner des rendements satisfaisants dans des zones sujettes à des stress de périodicités connues. La notion d'adaptation est liée à celles de résistance et de tolérance aux stress (Kadi z., 2012).

Au cours de ces mécanismes, la plante met en place différentes modifications de ses comportements morpho-physiologique (Bennaceur *et al.*, 2001), biochimique (Grennan, 2006) et minéral (Martinez *et al.*, 2007) afin d'assurer sa survie face aux stress abiotiques.

L'amélioration de la tolérance à la sécheresse chez le blé, devrait prendre en compte plusieurs niveaux d'intégration, en définissant, pour chacun d'eux, un objectif spécifique. La caractérisation physiologique, l'analyse génétique des caractères et la recherche de marqueurs moléculaires pour ces caractères s'avèrent d'une utilité incontournable. La physiologie examine les effets du stress au niveau de la cellule ou de l'organe. La génétique se préoccupe de la variabilité et de la transmission des caractères de tolérance. La biologie moléculaire essaie d'identifier les gènes impliqués dans la tolérance à la sécheresse (Jaloul *et al.* 2009).

Les activités promotrices et inhibitrices des différentes hormones naturelles et leur implication dans la régulation de la croissance et du développement, ont suscité l'intérêt de fabriquer au laboratoire, des molécules de synthèse ayant des effets spécifiques. Le cas le plus spectaculaire est celui de l'auxine synthétique ou 2,4-D, largement utilisé comme herbicide.

L'acide abscissique est actuellement disponible pour diverses utilisations en agriculture : herbicides, régulateurs de croissance, inhibition de la germination, levée de la dormance, levée de la dominance apicale, retard de la sénescence, etc... (El Jaafari, 2000). Cependant, ces applications semblent être très rares à cause de l'instabilité de cette molécule à la lumière, ainsi que son prix très élevé (Jaouen, 2002).

3. Expression des protéines sous conditions de stress environnementaux.

Dans le contexte actuel de changement climatique, il est important de comprendre les mécanismes de la tolérance aux stress abiotiques des plantes pour développer des modèles et des stratégies de sélection et d'amélioration des cultures. Nous avons mis en évidence des adaptations spectaculaires des mitochondries de graines, qui du fait de leur capacité à se déshydrater, possèdent une remarquable tolérance au stress. En particulier les graines accumulent des protéines de stress telles que des petites Heat Shock Protein (sHSP) et des LEA (Late Embryogenesis Abundant protein).

3.1. Les protéines HSP :

Pendant les stress, de nombreuses protéines subissent des modifications structurales et des changements fonctionnels. Il est par conséquent très important, pour la survie de la cellule soumise à un stress, de maintenir ces protéines dans une conformation fonctionnelle, d'éviter l'agrégation de protéines dénaturées et d'éliminer les polypeptides non fonctionnels et potentiellement dangereux. Les protéines HSP sont une classe de protéines chaperonnes initialement découvertes en raison de leur induction par la chaleur.

Par la suite, les protéines HSP ont été montrées comme pouvant s'accumuler lors d'autres stress comme le stress hydrique et ont également été identifiées comme étant capable d'intervenir dans l'inhibition des dommages liés à l'oxydation.

Leur rôle crucial est 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).

3.2. LEA (late embryogenesis abundant):

Les protéines LEA (*Late Embryogenesis Abundant proteins*) sont des protéines qui contribuent, principalement chez les végétaux, à l'acquisition de la tolérance à la dessiccation,

en particulier dans le cas de déshydratation ou de stress induit par le froid. Basé sur les motifs de leurs protéines correspondantes, elles ont été classifiées en au moins six différents groupes. La caractéristique unitaire des protéines LEA est, chez les plantes, leur accumulation liée au développement, des stress environnementaux (froid, forte concentration saline, dessiccation) ou la présence d'ABA (Wise, 2003).

Ces protéines pourraient protéger les structures cellulaires contre les effets d'une perte d'eau en fonctionnant comme un tampon d'hydratation, par isolation d'ions, ou par protection directe des autres protéines ou membranes (Guy, 2003).

*Matériel et
méthodes*

1. Matériel végétal :

Le matériel végétal utilisé dans ce travail est constitué de quatre variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf) dont deux d'origine locale (Hedba 3 et Boussalem) et deux autres introduites (Simeto et Ofonto).

Ces variétés sont répertoriées dans le catalogue officiel de l'ITGC- EL Khroub et présentent les caractéristiques mentionnées dans le Tableau ci-dessous :

Tableau 1 : Caractéristiques des variétés étudiées :

	Simito	Ofonto	Boussalem	Hedba 3
Obtenteur	IAO ITALIO	IAO ITALIO	ITGC Setif	ITGC Sétif
Demandeur	ITGC	ITGC	ITGC	ITGC
Origine	Italie	Italie	Algérie	Algérie
Année d'inscription	2001	2001	2000	2001
Type de développement	Hiver	Hiver	Hiver	Hiver
Caractéristique agronomique	Elevé	Elevé	Elevé	Elevé
• Rendement				
Caractéristique technologique				
• PMG	Elevé	Moyen	Elevé	Elevé
• Qualité semoulière	Très bonne	Bonne	bonne	Bonne
• Mitadinage	Résistance	Sensible	Résistance	Résistance
• Teneur en protéines	15.80%	15.64%	15.01%	15.42%
Résistance aux maladies				
• Oidium feuille	Moyennement sensible	Moyennement sensible	Moyennement sensible	Moyennement sensible
• Oidium Epi	Résistance	Résistante	Résistance	Résistance
• Rouille brune	Moyennement sensible	Moyennement sensible	Sensible	Sensible
• Septoriose	Moyennement sensible	Moyennement sensible	Moyennement sensible	Moyennement sensible

2. Mise en place de l'essai :

Cette étude est réalisée au niveau du laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologie Végétale (GBBV), équipe 2 " Biotechnologie et Amélioration des Plantes " à *Chaabat EL Rassas* au niveau de l'université Constantine 1.

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

L'expérimentation consiste à procéder à l'observation de la réaction des quatre variétés de blé dur en un milieu hydroponique dans une chambre de culture tout en respectant une photopériode de 16h/8h appliquant deux différents stress : hydrique par illimitation de la solution nutritive à différentes durées et un stress thermique à deux températures différentes basse et haute pendant 4 heures.

L'étude de l'effet du stress hydrique et thermique sur les quatre variétés de blé dur a été réalisée sur la troisième feuille après l'obtention de la quatrième feuille.

4. Le plan d'expérimentation:

4.1. Germination des graines et mise en culture hydroponique :

Les graines des quatre variétés de blé dur ont été stérilisées dans une solution d'eau de javel à 70% (hypochlorite de sodium) pendant 20min puis une succession de lavage à l'eau distillée (Figure 6).

Nos graines stériles ont été ensuite mises en germination dans l'obscurité, dans des boîtes de Pétri, à une température ambiante.

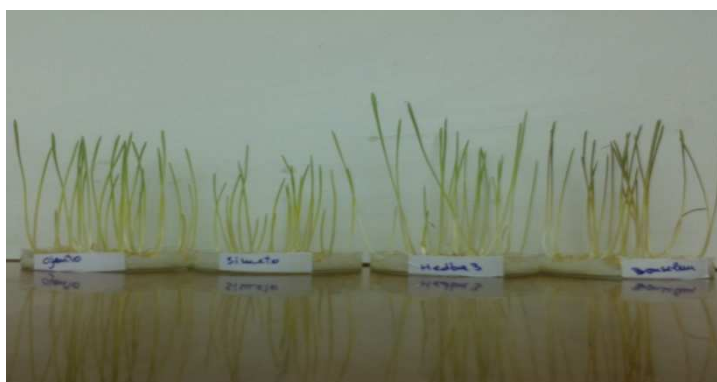


Figure 6 : Germination des graines

Dans des bacs en plastique, on a placé des pots remplis de sable qui ont été émergés dans une solution nutritive BD. Nous avons effectué dans ces derniers, le repiquage de nos jeunes plantules (Figure 7).

La solution nutritive est renouvelée chaque semaine pendant 21 jours pour assurer un milieu riche en nutriments qui conduit à un bon développement des plantules.



Figure 7 : Dispositif de l'essai.

4.2. Préparation de la solution nutritive :

Ce travail s'est basé essentiellement sur une culture de plantes hors sol, cette culture dite hydroponique consiste à émerger la partie racinaire de la plante dans un milieu chimique pour éviter les contraintes du sol, ce qui permet un bon développement des plantes dans des conditions totalement contrôlées.

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

Pour la préparation du milieu de culture, nous avons utilisé des solutions mères préalablement préparées avec des concentrations connues et une date de conservation précise.

Tableau 2 : Composition de la solution nutritive (Seillac, 1960).

Solution mère	Pour 100ml	Volume à préparer
1) CaCl ₂ 2H ₂ O	29.4 g	5/10 L
2) KH ₂ PO ₄	13.6g	5/10L
3) MgSO ₄ 7H ₂ O	12.3g	5ml/10L
K ₂ SO ₄	8.7g	
MnSO ₄	0.034g	
4) Fe, EDTA	0.734g	12.5ml/10L
5) Oligoéléments :	Pour 500ml	5ml/10L
H ₃ BO ₃	0.1235g	
MgSO ₄ 7H ₂ O	0.144g	
CuSO ₄ 5H ₂ O	0.05g	
CoSO ₄ 7H ₂ O	0.028g	
NaMoO ₄ 2H ₂ O	0.024g	

5. Répartition des plantules et stress appliqués :

L'étude de l'effet des stress hydrique et thermique a été réalisée après l'obtention de la quatrième feuille et développement de la troisième feuille, qui correspond à la quatre semaines de culture. À ce stade les variétés ont été réparties en 5lot:

- Premier lot : représente le témoin qui regroupe les plantules qui sont maintenues en solution nutritive et à température ambiante (25°C).
- Deuxième lot : représente les plantules du premier niveau du stress hydrique de 4h (stress modéré).
- Troisième lot : représente les plantules de deuxième niveau du stress hydrique de 24h (stress sévère).
- Quatrième lot : représente les plantules de premier niveau du stress thermique à 4°C.
- Cinquième lot : représente les plantules de deuxième niveau du stress thermique à 45°C.

5.1. Application du stress hydrique

L'étude de la réponse des plantes au stress hydrique est réalisée par la privation de solution nutritive tout en conservant les autres conditions de culture : lumière 16h/8h jour/nuit, une température ambiante de 27°C et une humidité de 49%.

Pour ce stress on a disposé de deux lots de plantes (Figure 8):

- Un premier est maintenu hors la solution nutritive pour une durée de 4 heures ce lot représente les plantes exposées un stress modéré
- Un deuxième est maintenu hors la solution nutritive pour une durée de 24 heures ce lot représente les plantes exposées un stress sévère.



Figure 8 : Application du stress hydrique

5.2. Application du stress thermique

L'effet du stress thermique et les modifications qu'il apporte au niveau du végétal a été effectué de deux étapes :

La 1^{ère} étape réalisé au phytotrome pour l'étude de l'effet des températures élevées ou les plantes étaient exposées à une température de 45°C et une humidité de 72% pendant 4 heures. (Figure 9)

La 2^{ème} étape réalisée dans une étuve réfrigérée pour l'étude de l'effet des basses températures ou les plantes étaient exposées à une température de 4°C pendant 4 heures. (Figure 10)

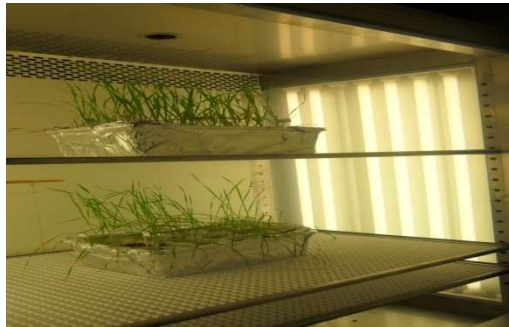


Figure 9 : Application du stress thermique de 4°C (phytotrome)



Figure 10 : Application du stress thermique de 45°C (étuve réfrigérée)

6. Les paramètres étudiés.

6.1. Paramètres morphologique.

6.1.1) Mesure de la surface foliaire :

La surface foliaire qui concerne la 3^{ème} feuille est déterminée par la méthode de Paul et *al.*, (1979) . Cette méthode consiste à décalquer la feuille de chaque plante avec ses deux répétition de chaque niveau de stress, découper la surface du papier correspondant ensuite la pesée. Par référence, on calcule le poids d'un carré du papier de 1cm². Enfin, on déduit la surface foliaire SF à l'aide de la formule suivante :

$$SF \text{ (cm}^2\text{)} = PF \cdot S \text{ (1cm}^2\text{)} / P \text{ (1cm}^2\text{)}$$

6.2. Paramètres physiologiques.

6.2.1) La teneur relative en eau (TRE %).

La teneur relative en eau (TRE) a été proposée par CLARK et MAC-GAIG (1982), elle consiste à évaluer la tolérance à la sécheresse et cela en état de déficit hydrique.

Dans cette technique, nous découpons et pesons une feuille de chaque plante, de chaque variété du blé dur avec deux répétitions pour obtenir le poids frais (PF) Ces feuilles sont mises dans des tubes à essai remplis d'eau distillée et laisser 24h dans l'obscurité.

Les feuilles égorgées d'eau sont à nouveau pesées pour obtenir le poids de turgescence (PT), alors que le poids sec (PS) est obtenu en les plaçant dans l'étuve à 85°C pendant 48heures. Selon BARRS (1968) la teneur relative est calculée comme suit :

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

6.2.2) La résistance stomatique.

La résistance stomatique est mesurée à l'aide d'un poromètre AP4 qui mesure la vitesse de diffusion de la vapeur d'eau au travers de la surface des feuilles et calcule la conductance (degré d'ouverture des stomates) ou de la résistance stomatique (le degré de fermeture des stomates).

Ceci est un déterminant majeur de perte d'eau des plantes (état hydrique de la plante) et de l'acquisition du CO₂ dans la photosynthèse.

Ce modèle AP4 donne une lecture directe de résistance stomatique (m²/mmol) ou de conductance (s/m). Nous avons établi une courbe d'étalonnage 1 heure avant la lecture puis inséré la partie médiane de la feuille dans la pince. Les résultats ont été stockés dans l'appareil de mesure pour être transférés à un ordinateur pour être traités. (Figure 11)



Figure 11 : Mesure de la résistance stomatique

6.2.3) L'intégrité membranaire.

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

Pour commencer nous devons tout d'abord prélever 3 échantillons (3^{ème} feuille) de chaque niveau de stress, les rincer soigneusement avec de l'eau désionisée, les couper en petits morceaux de 1cm et les recueillir dans des tubes à essai contenant 10ml d'eau désionisée. Ces derniers ont été fermés hermétiquement avec du coton et du papier aluminium en les maintenant 24 heures à une température ambiante.

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

La deuxième lecture est effectuée après 24 heures de la première après avoir autoclavé les tubes à 80°C pendant 20 minutes. (Figure 12)

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



Figure 12 : Mesure de l'intégrité cellulaire

6.3. Paramètres biochimique :

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

a) Principe de la chromatographie :

Chromatographie est un terme général, utilisé pour définir des méthodes d'analyse qualitative et quantitative, permettant de séparer les différents constituants d'un mélange liquide ou gazeux en se basant sur la distribution d'un soluté entre deux phases, l'une étant mobile (un gaz ou un liquide), l'autre stationnaire (un solide ou un liquide) (Rouessac, 2010).

Contrairement aux autres types de chromatographie où la nature du gaz est peu importante pour la séparation des composés (interaction soluté-phase stationnaire), en chromatographie liquide à haute performance (HPLC) la séparation des composés se fait par des interactions avec la phase stationnaire et avec la phase mobile. Ces interactions sont primordiales.

L'échantillon est entraîné par la phase mobile au travers de la phase stationnaire qui a tendance à retenir plus au moins les composés de ce dernier à l'aide de différentes interactions.

Les composés à séparer (solutés) sont mis en solution dans un solvant. Ce mélange est introduit dans la phase mobile liquide (éluant). Suivant la nature des molécules, elles interagissent plus ou moins avec la phase stationnaire dans un tube appelé colonne chromatographique. (Figure 13)

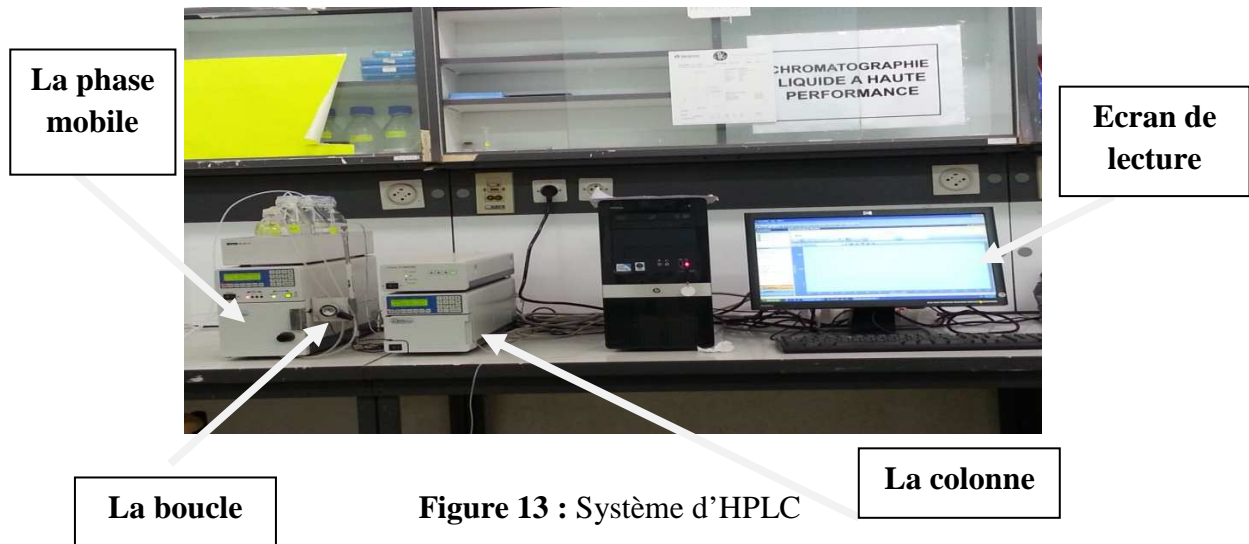


Figure 13 : Système d'HPLC

La phase mobile poussée par une pompe sous haute pression, parcourt le système chromatographique.

Le mélange à analyser est injecté puis transporté au travers du système chromatographique. Les composés en solution se répartissent alors suivant leur affinité entre la phase mobile et la phase stationnaire.

En sortie de colonne, grâce à un détecteur approprié, les différents solutés sont caractérisés par un pic (Figure 14). L'ensemble des pics enregistrés est appelé chromatogramme (Skoog, 2010).

La figure suivante est un exemple des pics qu'on a obtenus :

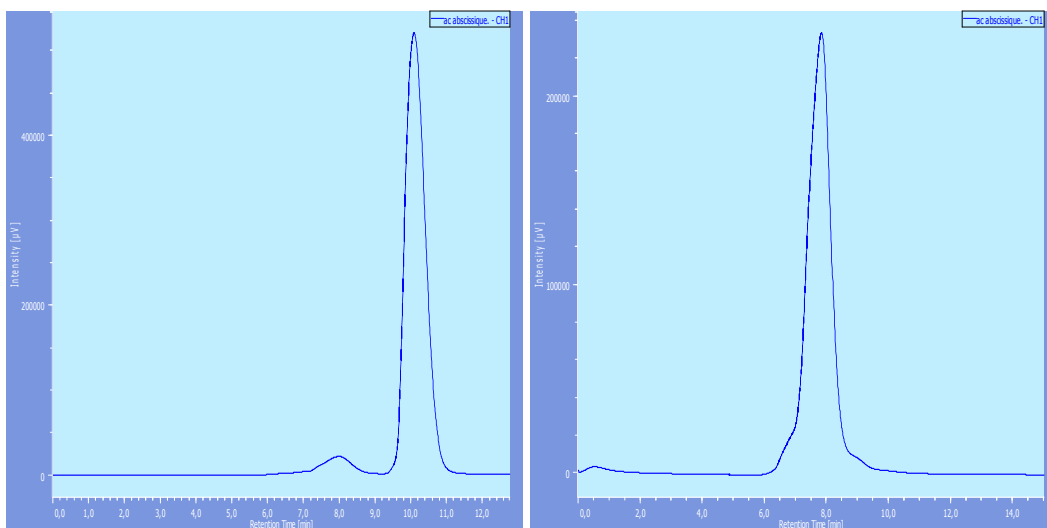


Figure 14 : Chromatogramme de l'acide ascorbique

La concentration de l'acide abscissique est calculée comme suit :

$$\frac{\text{Surface de pic étalon}}{\text{Concentration de l'étalon}} = \frac{\text{Surface du pic X}}{\text{Concentration de X}}$$

b) Extraction de l'acide abscissique (ABA) :

Selon Zhou, (2003) l'extraction de l'ABA se fait de la façon suivante :

- ✓ Peser 300 mg de matière fraîche des feuilles et des racines des échantillons témoins et stressés et puis la broyer avec de l'azote liquide à l'aide d'un mortier et un pilon et les placer dans des tubes Eppendorf de 1.5ml.
- ✓ Ajouter au broyant 750µl de solution d'extraction puis passer au sonicateur 5 min
- ✓ Centrifuger 2 min à 4°C et à 10 000 rpm.
- ✓ Récupérer le surnageant délicatement dans un nouveau tube sans détacher le culot et re-extraire ce qu'on a récupéré avec 750µl de la solution d'extraction, passer au sonicateur pendant 30min puis centrifuger 2 min à 4°C à 10 000 rpm et ajouter le deuxième surnageant.
- ✓ Evaporer le tampon d'extraction en versant les échantillons dans des boites Pétri puis dans un lyophilisateur à pression de 0.133 mBar et une température de - 46°C. Après avoir sécher les boites, le culot est récupéré avec 200 µl de solvant d'extraction et filtré (Whatman-Glass microfibre filters) pour passer à l'analyse.

c) Préparation de la solution d'acide abscissique :

La reproductibilité et la linéarité du système chromatographique a été estimé par cinq injections consécutives de différentes concentrations de ABA ainsi que des échantillons enrichis des feuilles et des racines du blé dur. La solution mère (1000 µg/ml) de l'ABA pur a été préparée en dissolvant 25 mg d'ABA dans 25 ml d'acétonitrile de qualité HPLC. Les échantillons d'étalonnage de concentration de 1, 5, 10, 50 et 100 µg/ml ont été préparés par dilutions successives de la solution (Figure 15). (Thompson et *al.*, 2002).

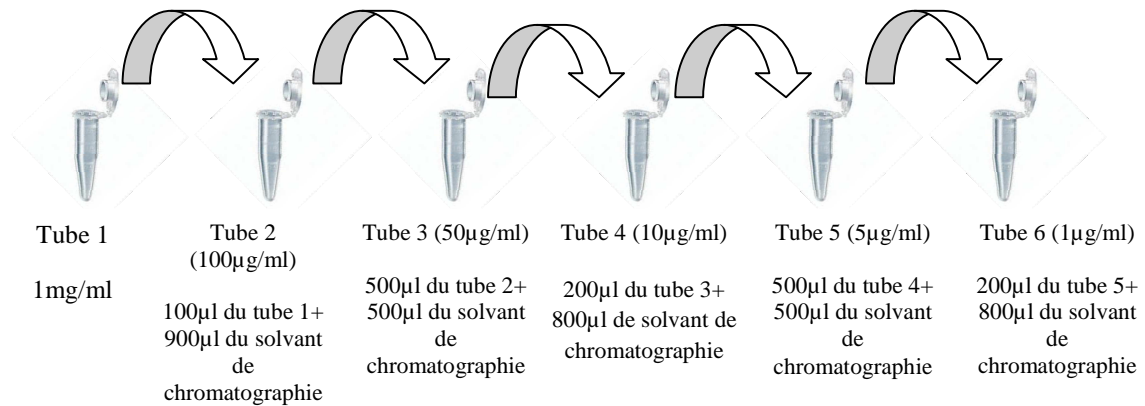


Figure 15 : Dilution en cascade de la solution mère d'acide abscissique

6.3.2) Analyse des protéines totales par technique de SDS-PAGE :

Une protéine est un enchainement linéaire d'acide aminé qui représente 50% du poids sec des cellules assurant toutes les activités cellulaires.

La séparation des protéines dans notre travail, consiste à les séparer par la technique de SDS-PAGE (sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis) qui repose comme toute technique électrophorétique, sur la séparation des molécules chargées dans un champ électrique. Sa particularité est de soumettre les échantillons protéiques à un prétraitement dénaturant sous l'action de deux composés :

- Le β -mercaptoéthanol qui est un composé qui exerce une action dénaturante sur les protéines oligomériques en rompant les ponts disulfure, ce qui désorganise leur structure tridimensionnelle et provoque la dissociation des sous unités.
- Le SDS (Sodium Dodecyl Sulfate) qui est un détergent anionique fort. Il a la propriété de défaire la structure spatiale en se fixant sur les protéines et de les charger de la même façon, permettant ainsi de les séparer uniquement en fonction de leur masse moléculaire.

a) Extraction :

Selon De Leonardis et *al.*, (2007), l'extraction des protéines totales des feuilles et des racines de blé dur commence par le broyage de 100mg des échantillons de chaque niveau de stress dans de l'azote liquide à l'aide d'un mortier et un pilon, puis par l'ajout d'1ml de la solution de précipitation et l'homogénéisation. Les échantillons sont stockés pendant une nuit à -20°C, puis centrifugés pendant 15min à 4°C à 13 000 rpm.

L'étape suivante consiste à éliminer le surnageant en renversant le tube tout en veillant à ne pas détacher le culot. Ce dernier est lavé avec 1ml de solution de rinçage, il est stocké pendant une nuit à -20°C , le surnageant est alors éliminé délicatement.

Dans un dessiccateur et pendant 30 minutes à 60°C on fait sécher les tubes. Le culot est alors réduit en poudre à l'aide d'une baguette en verre. Le culot ainsi réduit, est récupéré dans 100 μl de tampon de solubilisation *Laemmli buffer*, vortexé, centrifugé pendant 10 minutes à 20°C et stocké à -20°C . Le produit est enfin prêt à être déposé après sa décongélation.

b) Dépôts des échantillons et migration :

25 μl de chaque échantillon est déposé dans un puits à l'aide d'une microseringue tout en respectant l'endroit du dépôt du marqueur de taille. Après chaque dépôt, la seringue doit être rincée avec le tampon de migration. La cuve d'électrophorèse (bac inférieur) est remplie d'un volume suffisant de tampon de migration. (Figure 16)

Une fois la migration terminée, il faut attendre jusqu'à ce que le front de BBP atteigne le bord inférieur des plaques (Approximativement 2-3 h).

La migration se fait de la petite molécule de polypeptide à la grande molécule, la vitesse de migration du dernier est plus faible que la première et la masse moléculaire est exprimée en KDa (Dicko, 2006).

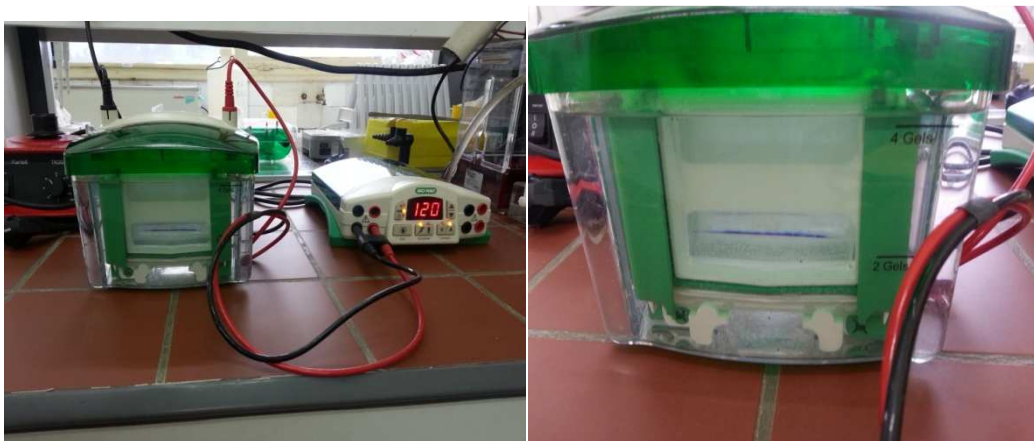


Figure 16 : La migration des protéines totales sur gel d'acrylamide.

c) Révélation des gels

La révélation a été faite par coloration et fixation pendant toute une nuit dans une solution de coloration. La décoloration a été réalisée par plusieurs rinçages à l'eau distillée.

7. Traitement des données

Afin de pouvoir caractériser les différences qui existent entre les variétés étudiés concernant les différents paramètres mesurés, nous avons calculé certains paramètres statistiques à l'aide du logiciel d'analyse et traitement statistique des données « Exel STAT 2009 ».

L'interprétation des gels électrophorétique est se fait grâce à l'utilisation du logiciel *E-Capt* qui donne le poids moléculaire en fonction du marqueur du poids (FPM). La présence des bandes est codée par « 1 » et leur absence par « 0 ».

*Résultats et
discussions*

1. Paramètres morphologique :

1.1. Analyse de la surface foliaire SF (cm²):

La surface foliaire est affectée par le stress hydrique ainsi que par le stress thermique. Selon la (Figure 17) et l'analyse de variance, on observe des différences significatives entre les différents génotypes, et au sein du même génotype d'un niveau de traitement à l'autre. Les valeurs enregistrées de la SF chez les témoins, s'étalent de 11.85cm² Hedba3 à 5.43 cm² Boussellam (Figure 17).

Globalement, la diminution des apports d'eau provoque une perte de la surface foliaire chez tous les génotypes étudiés. Après 4h de manque d'eau, Hedba3 marque une réduction foliaire petite par une moyenne de 0.70 cm², par contre, cette même variété présente la réduction la plus importante après un stress hydrique de 24h avec une valeur de 4.28 cm². (Figure 17 A).

Les variétés Simeto et ofonto se comportent presque similairement face à un stress hydrique modéré (4h) et sévère (24h). Ils présentent une valeur d'abaissement foliaire de 1,11 cm² pour simeto et 1,62 cm² pour ofonto dans le premier niveau de stress et de 2.93 cm² pour simeto et 3.07 cm² pour ofonto par rapport aux témoins. Cependant, boussallem présente la plus petite diminution foliaire au niveau du stress sévère (24h) avec une valeur de 2,20 cm².

Quant au stress thermique, les résultats obtenus montrent une réduction foliaire moins élevée dans les variétés introduites par rapport aux variétés locales. (Figure 17 B)
Chez la variété simeto, aucune diminution de la surface n'a été remarquée dans le stress de 4°C, mais on a observé une diminution de 2 cm² dans celle de 45°C. Pour Ofonto, les mêmes réponses ont été observées, c'est-à-dire une diminution très petite (0.07 cm²) sous une température de 4°C et sous une température de 45°C, la diminution arrive jusqu'à 2.45 cm².

La comparaison aux autres variétés étudiées, montre que Boussalem a marqué un comportement différent face au stress thermique. En effet, sa surface foliaire a augmenté dans le premier niveau avec une valeur de 0.65 cm² et dans le deuxième niveau, la valeur d'augmentation était de 3.36 cm².

La surface foliaire de la variété Hedba3 semble être la plus affectée par la température avec une valeur de réduction de 2.67 cm² dans les basses températures (4°C) et une valeur plus grande égale à 4.09 cm² dans les hautes températures (45°C).

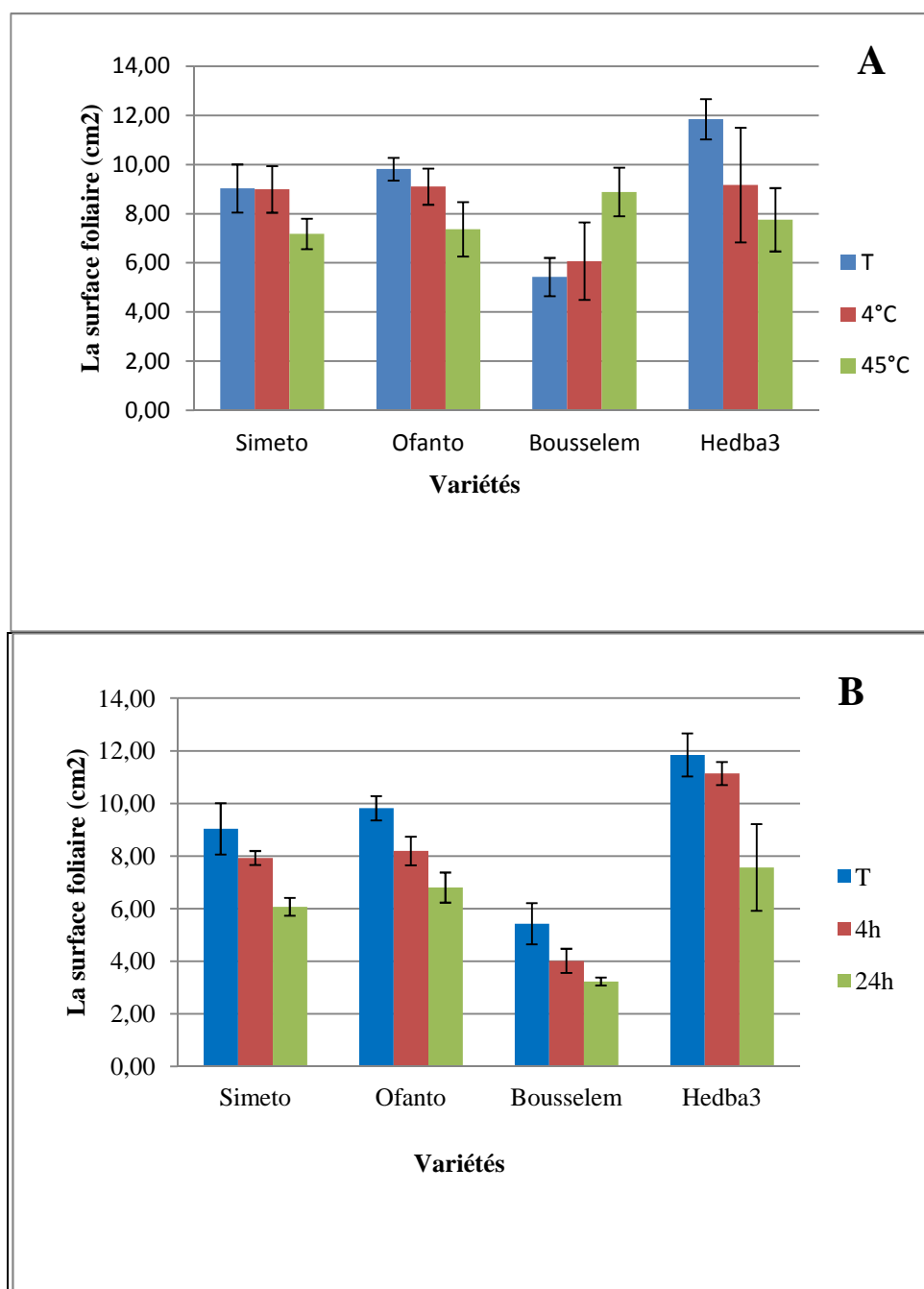


Figure 17 : Variation de la surface foliaire des quatre géotypes de blé dur soumis à deux traitements de stress abiotique : (A) stress hydrique et (B) stress thermique.

Cependant, l'analyse de la variance effectuée sur les facteurs variétés et le facteur niveau de stress, ainsi que sur leur interaction, a montré l'existence d'une différence non significative dans les deux stress hydrique et thermique. (Annexe 6)

Ces résultats sont en accord avec ceux de Granier et Tardieu (2000), dans lesquels il a été montré que la réduction de la surface foliaire est une réponse fréquente des végétaux

soumis à un stress hydrique. Or, cette diminution est un signe de la réduction des pertes en eau et donc à une tolérance meilleure à la sécheresse. Ces modifications résultent d'une diminution de la vitesse de division des cellules constituant les tissus végétaux (Bousba et *al.*, 2009), tandis que les poids de matière sèche aérienne, racinaire et la surface foliaire diminuent en fonction de la température, (Granier et *al.*, 2000).

Ainsi et Selon Attia F. (2007), la surface foliaire est un caractère morphologique d'adaptation aux contraintes abiotique.

2 .Paramètres physiologiques :

2.1. Analyse de la teneur relative en eau :

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

Ce paramètre est affecté par des contraintes abiotiques, nous avons noté dans ce travail, une contrainte hydrique et thermique.

D'après la courbe (Figure 18 A) on remarque que la teneur relative en eau (TRE) diminue sous l'effet des deux stress hydrique (stress de 4 heures et stress de 24 heures) et thermique (4°C et de 45° pendant 4 heures).

Les témoins (T) des quatre variétés présentent les valeurs de la TRE les plus élevées variant entre 85.09% chez la variété Boussallem et 90.92% chez la variété Hedba3.

Le premier niveau du stress hydrique correspond à un stress appliqué pendant 4 heures. Une diminution de la TRE est observée chez les quatre variétés ; Cette dernière varie de 73.31% chez Ofanto jusqu'à 77.02% chez Hedba3.

La durée du deuxième niveau du déficit hydrique est de 24 heures. On note un pourcentage de la TRE qui va de 64.34% chez Hedba3 à 75.93% chez Boussellem, mais elle diminue par rapport à celle du premier niveau.

Un deuxième stress a été appliqué : stress thermique à deux niveaux 4°C et 45°C pendant 4 heures. Les plantes stressées à 45°C présentent une baisse de la TRE par rapport aux plantes stressées à 4°C et également par rapport à celles des témoins.

La TRE à 4°C diffère entre les quatre variétés, elle présente une valeur de 80.05% chez simito et diminue à 69.02% chez Boussellam, alors qu'à 45°C elle va d'un pourcentage de 79.66% chez Simito à 40.18% chez Hedba3. (Figure 18 B)

On note bien une diminution remarquable de la teneur relative en eau, elle est importante chez les variétés Simito et Boussellam par rapport à Ofanto et Hedba3.

Cela explique que les plantes sont dans un état de choc suite à leur exposition à des niveaux de stress différents. Elles réagissent donc activement par l'ouverture et la fermeture des stomates afin de réduire au maximum la perte d'eau.

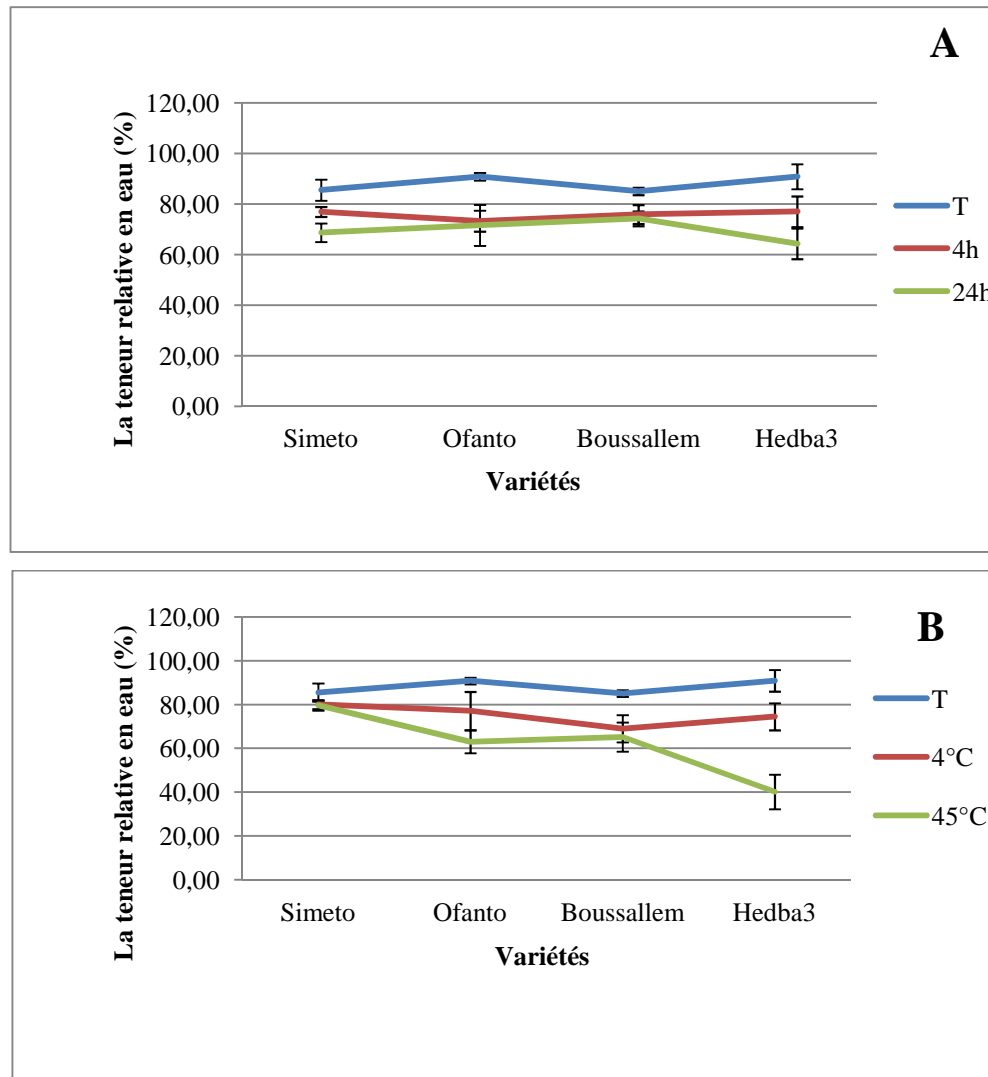


Figure 18 : Variation de la teneur relative en eau foliaire des quatre géotypes de blé dur soumis à deux traitements de stress abiotique : **(A)** stress hydrique **et** **(B)** stress thermique.

L'analyse de variance de la TRE fait ressortir des différences très hautement significatives pour l'effet traitement et entre les variétés et non significative pour leur interaction. (Annexe 6)

Au stress hydrique, le test de NEWMAN-KEULS au seuil de 5% désigne l'existence de deux groupes homogènes, le premier groupe (A) présente la variété Hedba3 avec une moyenne minimale de 69.38%, alors que le second groupe (B) porte sur les variétés

Boussellam, Ofanto et Simito avec des moyennes de 73.89%, 75.19% et 78.18% respectivement. Le test des variétés au stress thermique révèle l'existence de trois groupes homogènes. Groupe (A) renferme les variétés Simito et Ofanto avec des moyennes générales de 81.75% pour Simito et 77.01% pour Ofanto, le deuxième groupe présente les variétés Ofanto et Boussellam avec des moyennes respectivement de 77.01% et 73.10%. Le troisième et dernier groupe(C) regroupe les variétés Boussellam avec une moyenne générale de 73.10% et Hedba3 avec une moyenne de 68.52%.

Pour le facteur traitement, le test de NEWMAN-KEULS révèle l'existence de trois groupes homogènes en ce qui concerne le stress hydrique mais aussi en ce qui concerne le stress thermique.

En ce qui concerne le stress hydrique, on observe trois groupes homogènes : stress hydrique de 24heures, stress hydrique de 4heures et témoin avec des moyennes de 70.14%, 75.38% et 88.11% respectivement. Le stress thermique présente la même moyenne du témoin (88.11%) groupe (A) stress thermique de 4°C groupe (B) avec une moyenne de 75.16% et le dernier groupe stress thermique de 45°C avec une moyenne minimale de 62.02%.

En condition de stress hydrique, l'interaction (traitement× variété) révèle la présence de quatre groupes. Le groupe (A) renferme l'interaction témoin avec les quatre variétés avec des valeurs qui vont de 90.92% à 85.09%, alors que le dernier groupe (D) regroupe les deux autres traitements (4heures et 24heures) pour les quatre variétés avec une valeur minimale de 64.33%.

En condition de stress thermique, l'interaction (traitement× variété) a montré l'existence de six groupes. Le premier correspond aux témoins des quatre variétés, la variété Simito aux traitements de 4°C et 45°C ainsi que la variété Ofonto sous stress de 45°C. Les valeurs de l'interaction fluctuent de 90.92% à 77.11% alors que le dernier groupe présente l'interaction de la variété Hedba3 avec le traitement de 45°C pendant 4 heures où la moyenne minimale est de 40.17%.

D'après les résultats obtenus, on remarque que les variétés du blé dur montrent une capacité appréciable de sauvegarde d'eau dans les feuilles en condition des deux stress abiotiques (hydrique et thermique) ainsi qu'une similitude dans la réponse. Cela s'explique par une fermeture des stomates dès la rencontre du stress hydrique (Ykhlef et Djekkoun 2000) et thermique.

Plus le niveau de stress s'accroît et plus la teneur relative en eau diminue, cela implique une fermeture totale des stomates afin de réduire les pertes d'eau tout en maintenant un état de turgescence parfait des cellules.

Le coefficient de corrélation entre le degré d'ouverture des stomates et l'état hydrique de la plante, est de 0.933 pour le stress hydrique et de 0.953 pour le stress thermique. Une fermeture plus lente peut se traduire par une certaine tolérance à la déshydratation qui s'accompagne par une synthèse de l'acide abscissique.

Keyvan (2010) a montré que l'augmentation de l'intensité du stress provoque une diminution de la TRE chez le blé. De ce fait, on peut dire que cet état s'accompagne par une diminution des échanges gazeux et la transpiration, ce qui confirme la conclusion de Collinson (1997) qui affirme que les espèces végétales qui maintiennent des teneurs élevées en eau relatives des feuilles, sont considérées comme étant des espèces résistantes à la sécheresse.

2.3. Analyse de la résistance stomatique :

La résistance stomatique est légèrement faible en condition de bonne alimentation hydrique. Elle varie de 8.00 s/cm chez Simito à 16.90s/cm chez Hedba3.

En condition de stress hydrique, l'augmentation de la résistance stomatique est proportionnelle à l'augmentation du niveau de stress (4heures et 24heures).

Au niveau du stress hydrique de 4 heures, la résistance stomatique varie de 12.03s/cm chez la variété Simito, à 17.10s/cm chez la variété Boussellam.

Au second niveau qui est un stress hydrique appliqué pendant 24 heures, le comportement est similaire à celui des quatre variétés à 4 heures, notant comme valeur maximale 21.07s/cm chez Hedba3 et une valeur minimale chez Simito. (Figure 19 A)

En appliquant un stress thermique de 4 heures à 4°C et 45°C, la réponse des plantes reste la même. Il est à remarquer que des valeurs optimales sont notées pour le stress de 4°C (une valeur minimale de 14.60s/cm est enregistrée chez la variété Hedba3 et une valeur maximale de 20.40s/cm est enregistrée chez la variété Hedba3.

A 45°C, le comportement des plantes change totalement comparativement à celui du témoin. Les valeurs présentent une résistance stomatique faible qui va de 0.51s/cm chez Simito à 2.40s/cm chez Hedba3. (Figure 19 B)

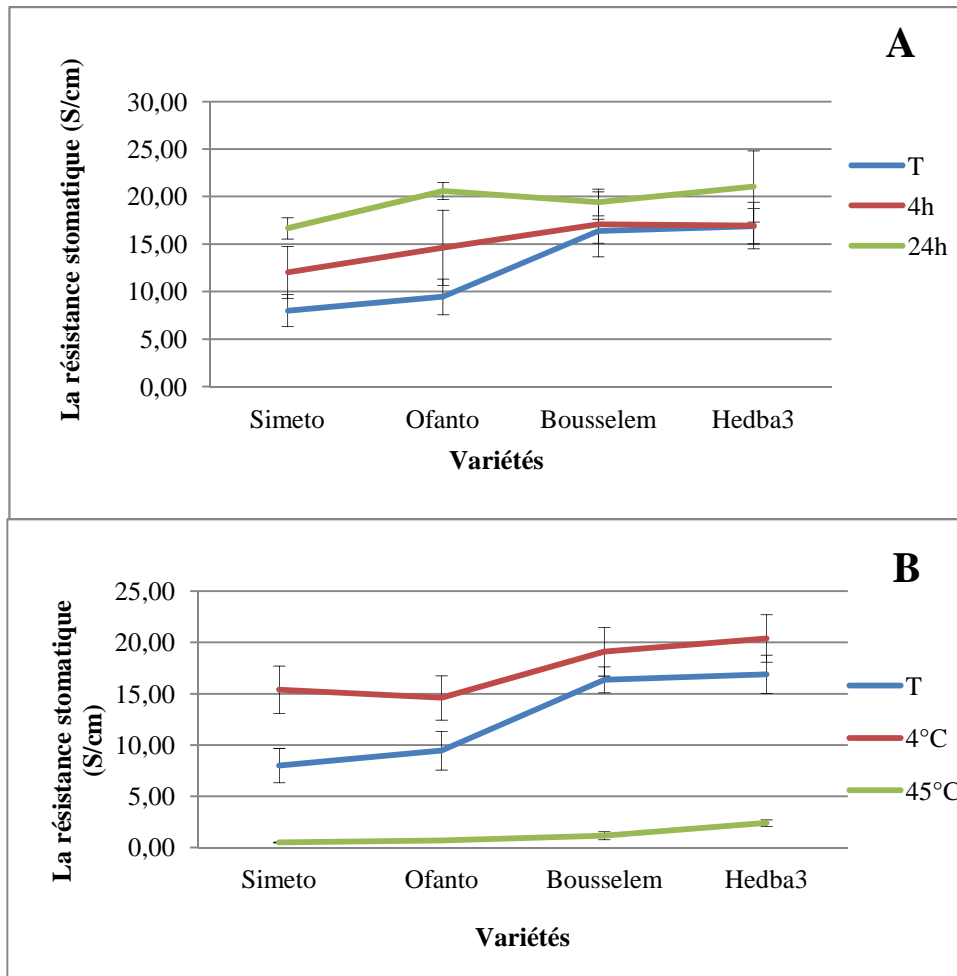


Figure 19 : variation de la résistance stomatique des quatre géotypes de blé dur soumis à deux traitements de stress abiotique : (A) stress hydrique et (B) stress thermique.

La comparaison des moyennes de la résistance stomatique et l'analyse de variance, montrent qu'il existe une différence très hautement significative entre les traitements et les variétés et une différence significative entre l'interaction (variété × traitement). (Annexe 6)

Au stress hydrique, le test de NEWMAN-KEULS au seuil 5% désigne l'existence de trois groupes homogènes de variété. Le premier groupe (A) présente la variété Simito avec une moyenne de 12.23s/cm, alors que le deuxième groupe renferme les variétés Ofonto avec une moyenne 14.90s/cm et le dernier groupe avec des moyennes égales à 17.62s/cm (Boussellam) et 18.31s/cm (Hedba3).

Par contre, au stress thermique, on distingue deux groupes homogènes, le groupe (A) qui regroupe deux variétés; Simito avec une moyenne de 7.97s/cm et Ofanto avec une moyenne de 8.27s/cm.

Pour le facteur traitement, le test de NEWMAN-KEULS révèle l'existence de trois groupes homogènes en ce qui concerne le stress hydrique et le stress thermique.

En condition de stress hydrique et thermique, le test élucide trois groupes homogènes pour chaque stress. La valeur maximale au stress hydrique est celle du groupe C avec une moyenne de 18.85% qui est le traitement à 24 heures alors que celle du stress thermique est de 17.37% qui est attribuée au traitement à 4°C. Les valeurs minimales sont de 12.68% et 1.18% respectivement.

L'analyse de la variance de l'interaction (traitement× variété) montre l'existence de trois groupes homogènes sous l'effet du stress hydrique. Le groupe (A) renferme l'interaction entre le témoin et les variétés Simito et Ofanto et le traitement à 4 heures avec la variété Simito avec des valeurs respectivement de 8.00%, 9.46% et 12.03%. Le dernier groupe présente tout le reste des traitements avec les quatre variétés, leurs valeurs s'étendent de 14.63% à une valeur maximale de 21.06%.

Alors qu'en condition de stress thermique, l'interaction (traitement× variété) révèle la présence de 5 groupes. Le groupe (A) renferme l'interaction témoin pour les quatre variétés avec des valeurs minimales allant de 0.51% à 2.40% alors que le dernier groupe (E) regroupe les deux autres traitements (4°C et 45°C) pour les quatre variétés avec une valeur maximale de 19.10% à 20.40%.

Bousba et *al.*, en 2009 ont montré que le blé répond au stress hydrique par une augmentation dans la résistance stomatique. La fermeture prolongée des stomates entraîne l'arrêt des processus photosynthétiques et ainsi un faible rendement.

La réponse au stress hydrique est suivie par une réduction de la densité des stomates. La diminution de cette dernière ne se traduit pas toujours par une réduction des pertes en eau par la plante, à cause de sa compensation par l'augmentation de leur taille (Wang et Clarke, 1993).

D'après Ykhlef, (2001) le maintien de la turgescence des tissus foliaires entraîne une ouverture des stomates et contribue au maintien d'une activité photosynthétique importante. Plusieurs travaux montrent que le déficit hydrique chez les céréales, en particulier le blé dur, affecte à la fois les phénomènes stomatique et non stomatique de la photosynthèse.

La fermeture prolongée des stomates entraîne l'arrêt des processus photosynthétiques et provoque ainsi la mort de la plus part des plantes. La fermeture stomatique rapide comme une meilleure adaptation à la sécheresse, permet à la plante d'économiser l'eau disponible et de maintenir une teneur élevée en eau des tissus et aussi une certaine sensibilité à la déshydratation. Au contraire, une fermeture stomatique plus lente peut traduire une certaine tolérance à la déshydratation qui peut être accompagnée d'un ajustement osmotique. La vitesse de la réponse des stomates au cours du temps dépend non seulement des espèces et

de leur consommation en eau, mais aussi de la réserve en eau utilisable du sol (Rejeb et *al.* 1991).

2.3. Analyse de l'intégrité membranaire :

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

Avant le stress, les témoins présente un pourcentage de stabilité assez élevé qui varie de 95% dans la variété Simeto jusqu'à environ 90% dans la variété Boussallem. Ofonto garde la seconde position avec un pourcentage de SM de 94% suivi par Hedba3 avec 92.70% de stabilité membranaire. Après l'application des deux niveaux de stress hydrique, la stabilité membranaire des feuilles de toutes les variétés a été remarquablement réduite et plus fortement dans le stress de 24h que celui de 4h,

Cette réduction par rapport aux valeurs initiales avant le stress, est plus élevée dans Simeto, avec une diminution de 5% dans le stress de 4h et 7% dans le stress de 24h par rapport à Hedba3 qui a la stabilité la moins diminuée avec seulement 1,38% dans le stress de 4h et 2% dans le stress de 24h. (Figure 20 A)

Concernant le choc thermique, la stabilité des membranes a peu diminué dans les deux niveaux de ce stress par rapport au stress hydrique. La variété Boussallem reste la moins touchée avec un pourcentage de diminution de 1.51% dans le stress de 4°C et de 3.07% dans le stress de 45°C. Simeto et Ofonto semblent être les plus sensibles avec une réduction de stabilité d'environ 5% dans les deux niveaux du stress pour Simeto et de 5.24% dans le stress de 4°C et 8% dans celle de 45°C pour Ofonto.

Cependant, Hedba3 possède toujours la membrane la plus stable face au stress thermique. Elle présente un pourcentage de 92% après l'application du premier niveau du stress (4°C) et de 98.94% dans le deuxième niveau (45°C). (Figure 20 B)

Ces données trouvent leur confirmation dans le test de l'ANOVA qui révèle des différences très hautement significatives pour cette variable, pour les différents niveaux de stress hydrique et thermique. (Annexe B)

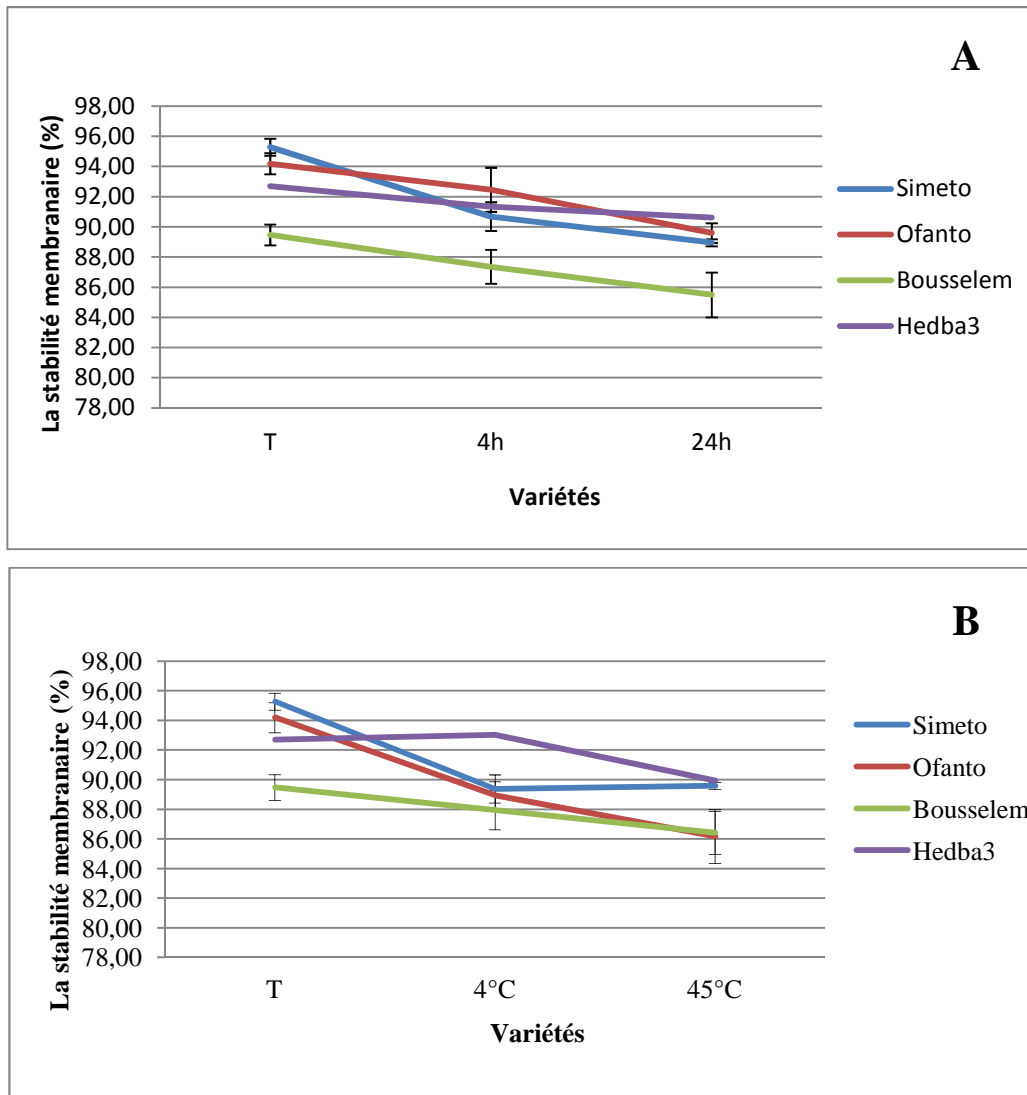


Figure 20 : Variation de la stabilité membranaire des quatre génotypes de blé dur soumis à deux traitements de stress abiotique : (A) stress hydrique et (B) stress thermique.

Le test NEWMAN-KEULS au seuil 5%, classe les niveaux de stress hydrique en trois groupes, dont la moyenne la plus élevée (92.911 cm², groupe C) est enregistrée pour le témoin, le deuxième groupe B représente le niveau 4h avec une moyenne de 90.456 cm², alors que la moyenne la plus faible est marquée au traitement de 24h (88.662 cm², groupe A)

Ce même test classe les niveaux de stress thermique en deux groupes, le groupe A englobe les deux niveaux du stress 4°C et 45°C (entre 88.028 cm² et 89.826 cm²), alors que le témoin enregistre la moyenne la plus élevée (92.911 cm², groupe B)

Le test NEWMAN-KEULS au seuil 5% pour le facteur variété, nous a permis d'isoler deux groupes homogènes. La variété qui affiche la valeur la plus élevée est Ofanto avec une moyenne de 92.079 cm² qui est affectée au groupe B avec Simeto (91.639 cm²) et Hedba3

(91.548 cm²). Le groupe A renferme la valeur la plus faible de la surface foliaire avec une moyenne générale égale à 87.439 cm² constatée chez le génotype Boussallem.

La matrice des corrélations indique l'existence d'une corrélation positive de ce caractère avec la teneur relative en eau (0.370 dans le stress hydrique et 0.600 dans le stress thermique), et la stabilité membranaire (0.769 dans le stress hydrique et 0.579 dans le stress thermique).

Les résultats obtenus montrent donc que le SM est assez élevé et que les feuilles gardent une intégrité structurale importante malgré le stress appliqué. Cette aptitude des ces quatre variétés de blé à maintenir la stabilité de ses membranes semble être associée à des mécanismes d'évitement de la contrainte. (Chorfi, 2009)

Des résultats similaires chez différents types de plantes, ont montré qu'au fur et à mesure que le stress hydrique devient plus important, plus la conductivité électrique augmente et donc l'intégrité membranaire diminue (Bousba, 2009).

Ainsi, la perte de stabilité des membranes cellulaires induite par les changements de températures, se traduit par une diminution de sa capacité à maintenir le contenu intracellulaire à l'intérieur de la cellule. On observe donc une fuite du contenu intracellulaire vers le milieu extracellulaire (Ibrahim et Quick, 2001)

3. Paramètres biochimiques :

3.1. Dosage de l'acide abscissique par la technique d'HPLC :

Les mesures de la teneur en acide dans les feuilles et les racines abscissique en utilisant la technique d'HPLC nous a permis de suivre sa localisation et son accumulation dans ces derniers.

Au niveau du stress hydrique de 4 heures et 24 heures le comportement des racines de la variété Simito est différent de celui des trois autres variétés. On note chez la variété Simito une forte concentration au niveau du témoin (106.26µg/300mg MF) qui chute à 4 heure puis une légère augmentation de 9.67µg/300mg MF. Chez les variétés Ofonto, Boussellam et Hedb3, la concentration de l'ABA augmente au fur et à mesure que l'intensité du stress augmente. On note alors une concentration maximale chez Hedba3 (106.26µg/300mg MF) et minimale chez Simito avec 9.67µg/300mg MF. (Figure 21 A)

Son accumulation diffère d'une variété à l'autre au niveau des feuilles, pour cela on distingue deux groupes différents. Le groupe A renferme les variétés Simito et Ofonto, chez lesquelles l'accumulation de l'ABA dans les feuilles est très importante comparativement à

celles du groupe B, et augmente avec l'intensité du stress, où on observe une valeur maximale de 510,47 $\mu\text{g}/300\text{mg}$ MF chez Ofonto à 24heure.

Par contre, les variétés du dernier groupe sont d'une concentration élevée chez les témoins avec comme valeur 85.9247 $\mu\text{g}/300\text{mg}$ chez Bousselem et 49.3847 $\mu\text{g}/300\text{mg}$ chez Hedba3. Ces valeurs diminuent au niveau du stress hydrique de 4heure et augmente au stress de 24heure avec des concentrations allant jusqu'à 67,96 $\mu\text{g}/300\text{mg}$ chez Bousselem et 76,65 $\mu\text{g}/300\text{mg}$ chez Hedba3. (Figure 21 B)

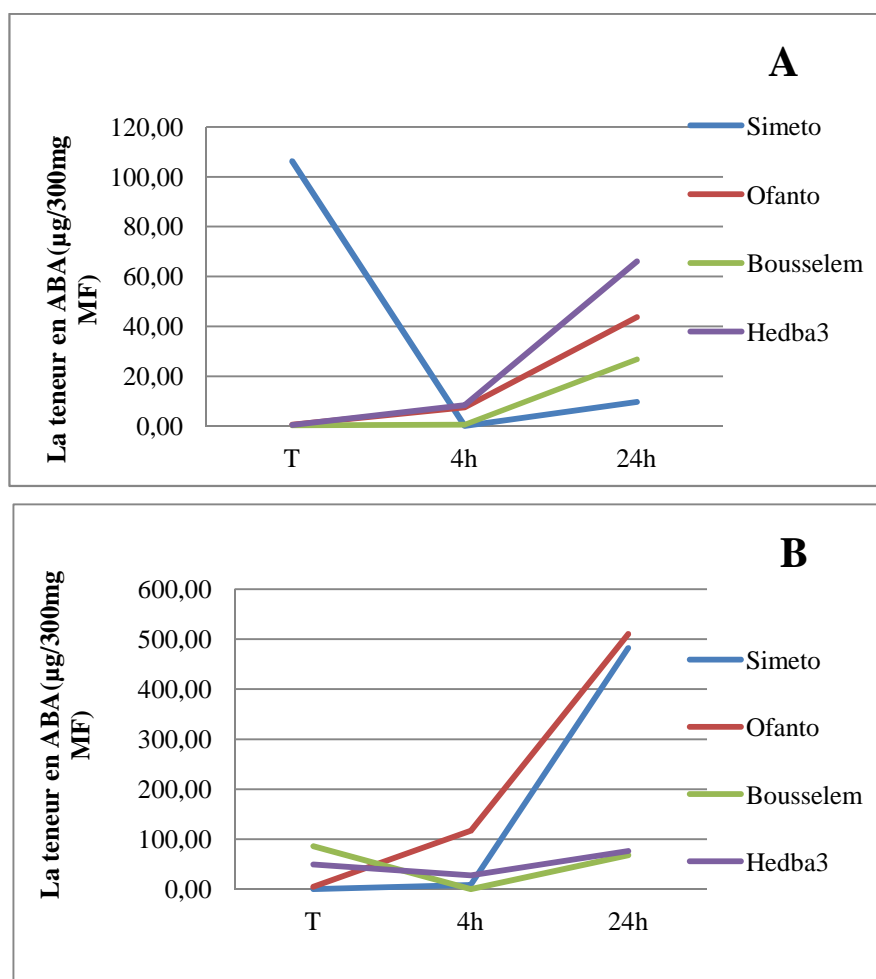


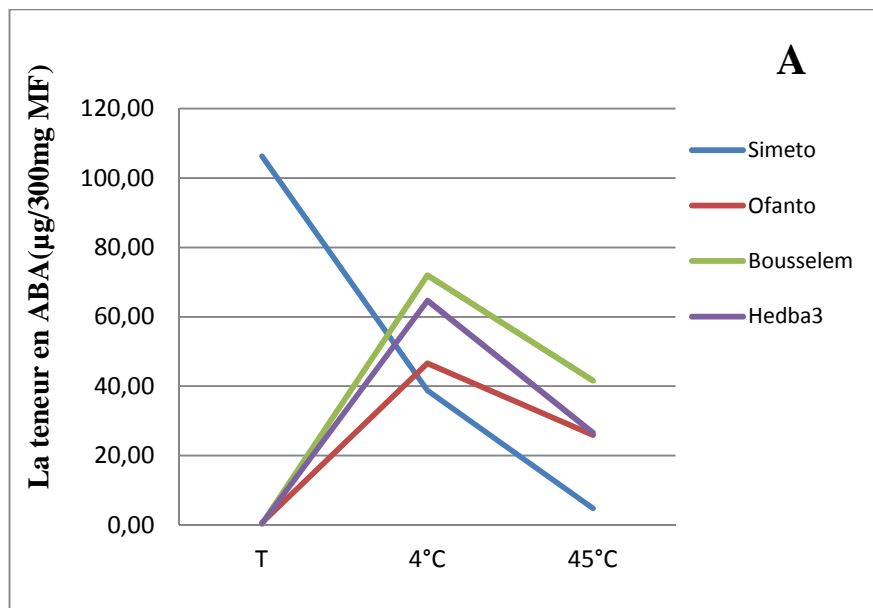
Figure 21: Variation de la teneur en ABA dans les racines (A) et les feuilles (B) des quatre génotypes de blé dur soumis à deux niveaux de stress hydrique.

En ce qui concerne le deuxième stress appliqué, qui est le stress thermique et au niveau des racines et aussi des feuilles des plantes, on remarque que les trois variétés Ofonto, Bousselem et Hedba3 avaient des valeurs initiales proches du zéro alors que seul la variété Simeto présente une concentration élevée dans le témoin des racines avec une valeur de 106.26 $\mu\text{g}/300\text{mg}$ MF, et des traces dans le témoin des feuilles.

La teneur en ABA a augmenté après l'application du stress thermique de 4°C dans les deux organes contrôlés sauf chez la variété Simeto où la concentration en ABA a diminué dans les racines et elle a augmenté dans les feuilles. Cette dernière présente la teneur en ABA la plus élevée par rapport aux autres variétés. Par contre, Ofonto est la variété qui produit la concentration la plus petite de l'ABA. (Figure 22 A)

Cependant, les quatre variétés présentent un comportement identique sous les hautes températures. Ce dernier est exprimé par une diminution nette dans les racines et les feuilles des plantes exposées à une température de 45°C. Cette diminution est plus importante dans les feuilles. (Figure 22 B)

Globalement, le stress hydrique provoque une teneur faible en ABA dans les feuilles non stressées, forte dans les feuilles modérément stressées (4h) et plus intense dans les feuilles fortement stressées (24h). Dans les racines, le profil d'évolution de la teneur en ABA est similaire à celle notée dans les feuilles. Cependant sa concentration est moins importante (Mahdid *et al.*, 2011).



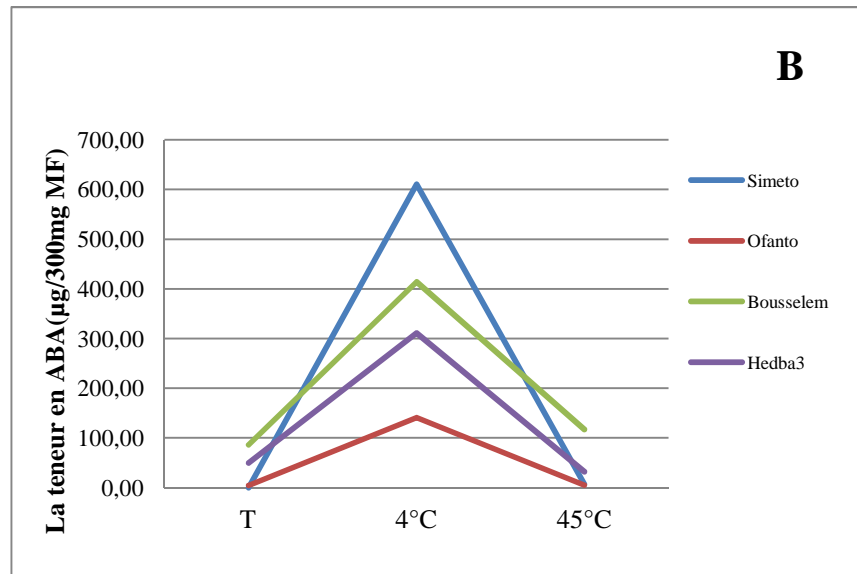


Figure 22 : Variation de la teneur en ABA dans les racines (A) et les feuilles (B) des quatre génotypes de blé dur soumis à deux niveaux de stress thermique.

Himmelbach et *al.*, (1998) ont expliqué ce phénomène par la sortie d'ABA des cellules racinaires et sa translocation dans les parties aériennes en situation de stress. Ils affirment aussi que lorsque l'ABA est suffisamment concentré dans les racines, il joue le rôle d'antagoniste de l'auxine en inhibant l'élongation de la racine, mais à plus faibles concentration l'ABA peut induire la croissance de cette dernière.

Selon Wilkinson et Davies (2010), dans des conditions de sécheresse, la concentration de l'ABA augmente dans l'apoplaste, entraînant la fermeture des stomates. Ainsi, la concentration élevée de l'ABA dans les racines non stressées de la variété Simeto, peut être justifiée par le fait que sa production est plus rapide par rapport à celle des autres variétés, alors que son transport vers les feuilles est très long.

La contrainte hydrique et le froid conduisent à un déficit hydrique cellulaire, c'est pourquoi leurs voies de signalisation ont de nombreux éléments communs (Gravot, 2009). Un de ses points communs est la teneur en ABA, selon les résultats obtenus, nos plantes se comportent similairement face au manque d'eau et face aux basses températures (traitement de 4°C).

Néanmoins, sous les hautes températures, les plantes gardent des stomates ouvertes pour maintenir leur évapotranspiration, donc elles ne synthétisent pas des grandes quantités de l'ABA parce qu'elles possèdent une quantité suffisante d'eau dans le sol.

3.2. Analyse des protéines totales :

L'utilisation de l'électrophorèse SDS-PAGE permet de détecter des différences dans les profils protéiques entre une variété locale (Hedba3) et une introduite (Simeto). Elle permet de la faire également entre les témoins et les plantes stressées de la même variété et sous deux contraintes abiotiques différentes en termes de présence et d'absence de bandes et de leurs poids moléculaires.

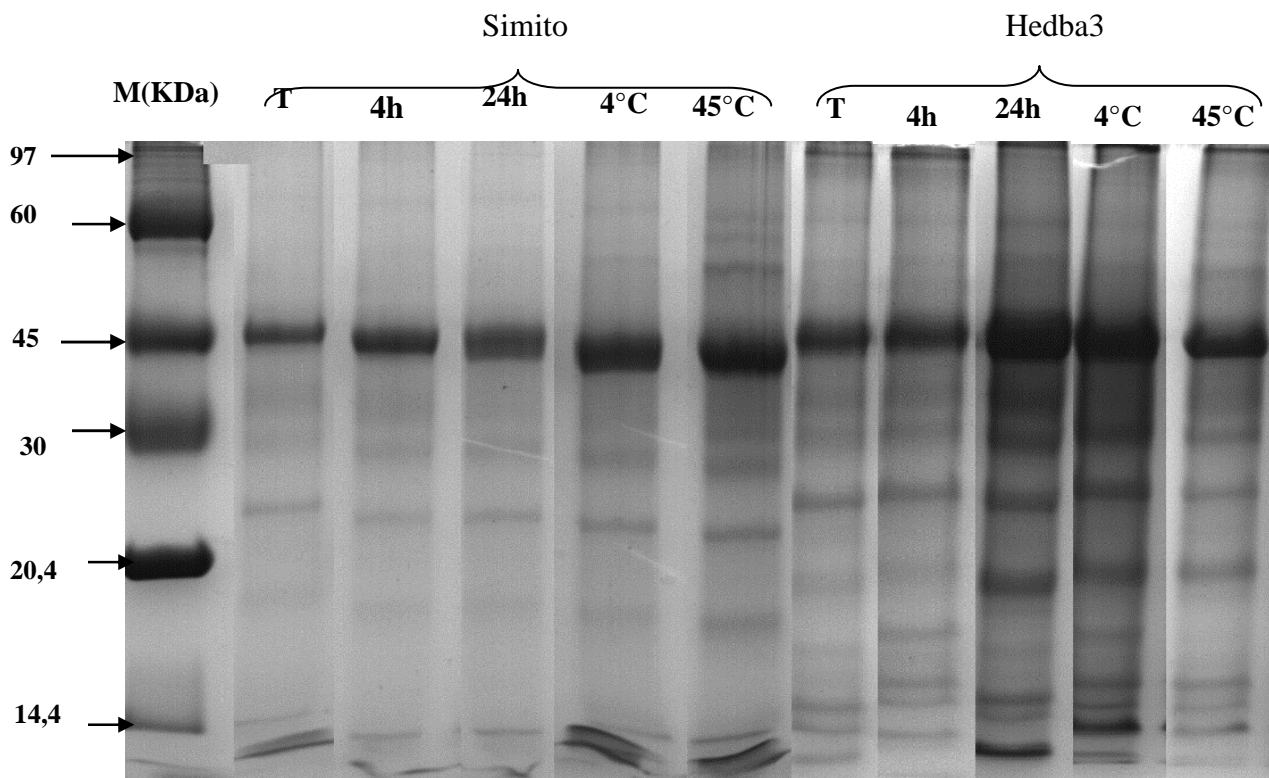


Figure 23 : Profil électrophorétique SDS-PAGE des protéines totales des feuilles de deux variétés de blé dur.

L'analyse des profils électrophorétiques des protéines totales des feuilles de la variété Simeto révèlent la présence de 36 bandes différentes. Leur poids moléculaire varie de 119.924 KDa à 18.244 KDa. Quatre bandes ont été observée aussi bien chez les témoins que chez les stressés, cinq bandes n'ont été observées que chez les témoins et 25 bandes sont apparues uniquement chez les stressés.

On remarque que le nombre de bandes chez les témoins est inférieur à celui des géotypes stressés. En effet, neuf bandes ayant un poids moléculaire qui varie de (19.087 à 61.773) KDa sont observées chez les témoins, par contre chez les stressés on dénombre au total 31 bandes qui varient de (18.244 à 119.924) KDa. Dont 11 d'entre elles n'ont été

observées que chez les plantes ayant subit un stress hydrique et 10 ont été observées que dans le stress thermique.

La bande de 26.209 KDa est la seule qui est présente dans le témoin et les quatre traitements. La bande de 43.908 KDa est présente dans les quatre traitements et absente dans le témoin. (Tableau 3)

Après 4h d'un manque d'eau, 6 bandes qui sont absentes dans tous les autres traitements sont apparues. Cependant, après 24h de stress hydrique, on a observé que deux autres bandes dans le stress thermique de 4°C et 6 bandes dans celui de 45°C sont apparues.

On remarque également que les bandes de 83.972 KDa et de 111.588 KDa sont spécifiques au stress hydrique, alors que celles de 63.882 KDa, 83.438 KDa et de 115.496 KDa sont spécifiques au stress thermique. (Tableau 3)

L'analyse du gel électrophorétique de la variété Hedba3 révèle la présence de 35 bandes polypeptidiques distinctes de poids moléculaires différents allant de 14.80 à 117.94KDa.

Pour l'ensemble des variétés, chez les plantes témoins, le nombre de bandes est assez faible en ce qui concerne le nombre de protéines. Sept bandes ont été observées chez les témoins et chez les stressés, mais seulement quatre bandes n'ont été observées que chez les témoins. (Tableau 3)

Sous les contraintes hydriques de 4 heures et 24 heures, le comportement protéique des plantes est relativement significatif entre elles, on notera cependant une légère évolution par l'apparition de trois bandes à 4 heures de stress et une bande à 24 heures en plus chez les témoins. Cela confirme l'idée selon laquelle le stress hydrique provoque l'augmentation de l'accumulation des déhydrines. D'autre part, en condition de stress thermique, les plantes suivent la même évolution par la synthèse des protéines.

Les bandes de taille 34.71KDa, 18.97KDa, 17.16KDa et 14.80KDa sont présentes chez toutes les plantes sauf la bande de taille 22.51KDa qui n'est pas présente sous condition de stress thermique à 45°C.

Les bandes de taille 42.90KDa et 19.85KDa sont spécifiques aux plantes témoins et les plantes en manque d'eau, alors que la bande de taille 26.20KDa est spécifique au stress thermique et que celle avec une taille de 26.63KDa, n'est spécifique qu'au stress thermique. (Tableau 3)

Par ailleurs, on remarque une nette différence dans l'intensité des bandes (Figure 23)

Resultants et discussions

Tableau 3 : Diagramme présence/ absence des bandes dans les feuilles de deux variétés de blé dur soumis à deux stress abiotiques

PM(Kda)	Simeto					Hedba3				
	T	4h	24h	4°C	45°C	T	4h	24h	4°C	45°C
119.924	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
119.403	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
117.946	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
115.991	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
115.496	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0
111.588	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
99.605	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0
99.234	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
99.084	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0
98.824	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
97.559	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
96.415	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
92.082	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
88.819	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
86.519	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
85.943	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
85.368	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
85.080	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
83.972	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
83.438	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
79.681	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
77.908	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
64.163	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
63.882	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0
63.246	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
62.826	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
62.194	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
61.773	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
52.394	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
52.059	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
51.976	1	0	1	0	0	0	1	0	0	1
51.111	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
50.737	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
47.151	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0
47.008	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
43.908	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0
42.908	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
41.581	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Resultants et discussions

39.852	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
39.599	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0
34.710	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1
33.893	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
32.744	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0
32.574	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
30.515	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
27.117	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
26.634	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0
26.209	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1
22.513	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0
21.107	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
19.851	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
19.200	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
19.087	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
18.975	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1
18.356	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
18.244	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
17.169	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1
15.274	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
14.808	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1

Présence de bande: 1

Absence de bande : 2

Ces changements dans le profil électrophorétiques des feuilles de la variété Simeto et Hedba3 sont dus à une inhibition de certaines protéines, une surexpression de certaines autres et d'une apparition de nouvelles protéines. Le changement dans l'expression des protéines est l'un des résultats de la modification du métabolisme lors d'un stress chez les plantes (Jangpromma, 2007).

Ce qui confirme que les deux stress hydrique et thermique induisent des modifications quantitatives et qualitatives dans la synthèse des protéines (Bousbaa et al., 2009). La synthèse de ces protéines de stress est due à une activation d'un ensemble de gènes permettant la synthèse des protéines spécifiques associées aux stress telles que les LEA et HSP (Longxing et al., 2010).

Conclusion

Conclusion

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

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

Les travaux effectués dans cette étude ont porté sur l'adaptation de quatre variétés de blé dur (deux locales et deux introduites), semés sous culture hydroponique, aux différents niveaux de stress hydrique (4h et 24h) et thermique (4°C et 45°C) appliqués au stade quatrième feuilles.

A la lumière des résultats obtenus, nous démontrons que l'adaptation de nos variétés est étroitement dépendante et favorisée par les différentes réponses morphologiques, physiologiques et biochimiques de la partie aérienne ainsi que de la partie racinaire dans les conditions de stress appliquées.

Les modifications d'ordre morphologique les plus observables sont à mettre en relation avec les variations de pression de turgescence. Les effets observés correspondent ainsi à une réduction de la surface foliaire et l'enroulement de ces dernières jusqu'à la mort.

Ces critères morphologiques sont associés à des changements au niveau de la membrane cytoplasmique des feuilles. L'étude physiologique montre que le stress appliqué a provoqué une réduction de la teneur relative en eau et de la stabilité membranaire, cette réduction est plus importante chez les feuilles fortement stressées. Cependant, la résistance stomatique augmente avec l'intensité et/ou avec la durée du stress.

La technique de la chromatographie liquide à haute performance a permis d'analyser l'acide abscissique (ABA) synthétisé et accumulé par la plante en réponse à différents types et niveaux de stress qui est impliqué dans certains mécanismes de résistance à la sécheresse. On a montré que lors d'un stress hydrique ou d'un froid, la concentration endogène d'acide abscissique augmente, ce qui provoque des changements physiologiques (la fermeture stomatique et l'enroulement foliaire) en limitant les pertes en eau. Il est également impliqué

dans la régulation de nombreux gènes -expressions induite par le stress-, conférant aux plantes la capacité d'adaptation aux contraintes environnementales.

La mesure de la concentration d'acide abscissique en utilisant l'HPLC est donc un bon indicateur de la tolérance de la plante.

Par ailleurs, la SDS-PAGE a révélé la présence et /ou l'absence de certaines protéines spécifiques à chaque variété, chaque stress et même à chaque niveau de stress qu'il soit hydrique ou thermique. Ce qui confirme que nos variétés maîtrisent leurs fonctions métaboliques en fonction des conditions du milieu de culture dont le but est de tolérer la contrainte.

A la fin, nous pouvons signaler que les quatre variétés de blé dur utilisent les mêmes stratégies pour tolérer le stress hydrique et thermique

En conclusion, la caractérisation physiologique, l'analyse génétique des caractères et la recherche de marqueurs moléculaires pour ces caractères s'avèrent d'une utilité incontournable. La physiologie examine les effets du stress au niveau de la cellule ou de l'organe. La génétique se préoccupe de la variabilité et de la transmission des caractères de tolérance. La biologie moléculaire essaie d'identifier les gènes impliqués dans la tolérance à la sécheresse. Aussi, l'exploitation de la phase haploïde d'une plante de céréale ouvre de nouvelles perspectives d'amélioration génétique forte intéressante pour le développement de la productivité du blé.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques:

- Addicott F.T., Lyon J.L., Ohkuma K., Thiessen W.E., Carns H.R. et al., (1968).** Abscisic acid : a new name for abscisin II (dormin). *Science (New York, NY)* 159 : 1493,
- Ait kaki Y., (2007).** Étude comparative des potentialités technologiques des blés durs algériens anciens et récents : Relation de la qualité de ces blés par différentes stratégies d'études : Critères technologiques (infra rouge), biochimiques (électrophorèse bidimensionnelle) et moléculaire PCR. Thèse de Doctorat d'état en sciences. Université Badji Mokhtar Annaba, 121p.
- Akkaya A., Dokuyucu T., Kara R., Akcura M., (2006).** Harmonization ratio of post- to preanthesis durations by thermal times for durum wheat cultivars in a Mediterranean environment, pp 404–408.
- Al Khatib K., et Paulsen G.M., (1984).** Mode of high temperature injury to wheat during grain development. *Plant Physiol.* 61: 363-368.
- Anderson J.P., Badruzsauhari E., Schenk P.M., Manners J.M., Desmond O.J., et al., (2004).** Antagonistic interaction between abscisic acid and jasmonate-ethylene signaling pathways modulates defense gene expression and disease resistance in Arabidopsis. *The Plant Cell* 16 : 3460–79.
- ATTIA F., GARCIA F., DEDIEU F., BEN MARIEM F., KASRAOUI M.F., LAMAZE T. et GARCIA., (2007).** Effet du stress hydrique sur la photosynthèse et la maturité phénolique du cépage Fer Servadou. 8ème Symposium International d'Œnologie, Bordeaux 25-27 juin France.
- Barrero J.M., Piqueras P., González-Guzmán M., Serrano et al., (2005).** A mutational analysis of the ABA1 gene of Arabidopsis thaliana highlights the involvement of ABA in vegetative development. *Journal of Experimental Botany* 56 : 2071–83.
- Belin C., (2006).** Structure et fonctions de la protéine kinase OST1 dans la cellule de garde d'*Arabidopsis thaliana*. Thèse de doctorat. L'université Paris-Sud D'orsay
- Benaceur M., Rahmoun C., Sdiri H., Medahi M., Selmi M., (2001).** Effet du stress salin sur la germination, la croissance et la production de grains de blé. *Sécheresse*, 12 (3): 167-174.
- Bouarroudj R., (2003).** Température et transpiration foliaire en conditions de manque d'eau chez quelques graminées. Thèse d'ingénieur. Université Mentouri Constantine. pp :18.
- Bousba R., Ykhlef N., Djekoun A., (2009).** Water use efficiency and flag leaf photosynthetic in response to water deficit of durum wheat (*Triticum durum Desf*). *World Journal of Agricultural Sciences* 5. 5. P: 609 -616.
- Bouzerzour H., (2002).** Rythme de développement des variétés contrastées de blé dur (*Triticum durum Desf*). Analyse de la croissance et développement. *Annales de la recherche agronomique. Institut national de la recherche agronomique d'algerie INRA.*, 52-70.
- Briggle L.W., et Curtis B.C., (1987).** Wheat worldwide. In *Wheat and Wheat Improvement*. E.G. Heyne (ed.). 2nd edition, ASA, CSSA, SSSA, Madison, WI, USA. Pp : 1-32.
- Calderini D.F., Reynolds M.P., Slafer G.A., (1999).** Genetic gains in wheat yield and associated physiological changes during the twentieth century. In: *Satorre, E.H., Slafer, G.A. (Eds.), Wheat: Ecology and Physiology of Yield Determination. The Haworth Press Inc., New York*, pp: 351–377.
- Casal J.J., (2002).** Environmental cues affecting development. *Current Opinion in Plant Biology* 5, 37-42.
- Casson S., Hetherington A.M., Pantin F. et al., (2013).** Developmental Priming of Stomatal Sensitivity to Abscisic Acid by Leaf Microclimate. *Current Biology*, vol 23., pp. 1805-1811

- Cheng W.H., Endo A., Zhou L., Penney J., Chen H.-C. et al., (2002).** A Unique Short-Chain Dehydrogenase/Reductase in Arabidopsis Glucose Signaling and Abscisic Acid Biosynthesis and Functions. *The Plant Cell Online* **14**, 2723-2743.
- Chennafi H., Aidaoui A., Bouzerzour H., Saci A., (2006).** Yield response of durum wheat (*Triticum Durum* Desf.) cultivar Waha to deficit irrigation under semi arid growth conditions. *Asian Journal of Plant Sciences* **5**: 854-860.
- Chorfi A., (2009).** Contribution à l'étude de la résistance a la salinité chez une variété de blé dur algérien (*Triticum durum* desf.) Var Mohamed Ben Bachir. *Sciences & Technologie. C – N°29*, pp. 41-44.
- Clark et Mac-Gaig, (1982).** Existed leaf water retention capability as an indicator of drought resistance of *Triticum* genotypes. *Can. J. Plant. Sci.* **62**: 571-578
- Collinson S., Clawson E., Azam-Ali S., Black C., (1997).** Effects of soil moisture deficits on the water relations of bambara groundnut (*Vigna subterranea* L. Verdc.). *Journal of Experimental Botany.* **48**: 877-884 pp.
- Cornforth J.W., Milborrow B.V., Ryback G., Wareing P.F., (1965).** Chemistry and Physiology of /'Dormins/' In Sycamore : Identity of Sycamore /'Dormin/' with Abscisin II. *Nature* **205** : 1269–1270.
- Cutler S.R., Rodriguez P.L., Finkelstein R.R., Abrams S.R., (2010).** Abscisic acid: emergence of a core signaling network. *Annu Rev Plant Biol.* **2010**;61:651-79.
- Davies B., Neary M. et Phillips R., (1994).** The Practitioner-Teacher: A Study in the Introduction of Mentors in the Pre-registration Nurse Education Programme in Wales. School of Education. University of Wales. Cardiff.
- Debaeke P., Puech J. et Casals M.L., (1996).** Elaboration du rendement du blé d'hiver en conditions de déficit hydrique. I. Etude en lysimètres. *Agronomie*, **16** : 3-23.
- De Leonardis A.M.D., Marone D., Mazzucotelli E., et al., (2007).** Durum wheat genes up-regulated in the early phases of cold stress are modulated by drought in a developmental and genotype dependent manner. *Plant Sci.* **172** : 1005 -1016 p.
- Dicko M. H., (2006).** Travaux pratique biochimie structurale et enzymologie. Centre de Recherche en Sciences Biologiques Alimentaires et Nutritionnelles. Univ. Ouagadougou.
- Dobrev P.I., Havlíček L., Vágnér M., Malbeck J. , Kamínek M., (2005).** Purification and determination of plant hormones auxin and abscisic acid using solid phase extraction and two-dimensional high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, **1075** (2005) 159–166.
- Dreyer E. et Tardieu F., (1997).** Régulation des échanges gazeux par les plantes soumises à la sécheresse. In *L'eau dans l'espace rural. Production végétale et qualité de l'eau*. INRA. France : Institut National de Recherche Agronomique. pp. 41-59.
- EL Jaafari, (2000).** Durum wheat breeding for abiotic stress resistance : definig physiological traits and criteria. Option méditerranéenne génétique et amélioration variétale. Montpellier (France).
- Fan J., Hill L., Crooks C., Doerner P., et Lamb C., (2009).** Abscisic Acid Has a Key Role in Modulating Diverse Plant-Pathogen Interactions. *Plant Physiology* **150**, 1750-1761.
- Finkelstein R.R., Gampala S.S.L., Rock C.D., (2002).** Abscisic acid signaling in seeds and seedlings. *The Plant Cell* **14** Suppl : S15–45.
- Finkelstein R., Reeves W., Ariizumi T., Stebern C., (2008).** Molecular aspects of seed dormancy. *Annual Review of Plant Biology* **59** : 387–415.
- Fujita M., Fujita Y., Noutoshi Y., Takahashi F., Narusaka Y., et al., (2006).** Crosstalk between abiotic and biotic stress responses : a current view from the points of convergence in the stress signaling networks. *Current Opinion in Plant Biology* **9** : 436–42.
- Gate P., Bouthier A., Casabianca H. & Deleens E., (1993).** Caractères physiologiques décrivant la tolérance à la sécheresse des blés cultivés en France : interprétation des

- corrélations entre le rendement et la composition isotopique du carbone des grains. Colloque Diversité génétique et amélioration variétale Montpellier (France). *Les colloques*. 64. *Inra*. Paris
- Gate P.H., (1995)**. Ecophysiologie du blé ; Technique et documentation : Lavoisier, Paris. 429 p
- Granell A., et Carbonell J., (2009)**. Les hormones végétales. Pour la science. N°228. P42. Azcon-Bieto J. et Talon M., (1993). Fisiologia y Bioquímica Vegetal. Interamericana McGraw. Madrid. P 144-162.
- Gravot A., (2009)**. Les réponses de stress chez les végétaux. Equipe pédagogique Physiologie Végétale. Université de Rennes 1
- Granier C., Inzé D. et Tardieu F., (2000)**. Spatial distribution cell division rate can be deduced from that of P34cdc2 kinase activity in maize leaves grown in contrasting conditions of temperature and water status. *Plant Physiol*. 124. P: 1393-1402.
- Grennan A.K., (2006)**. High impact abiotic stress in rice. An “omic” approach. *Plant Physiol*. April 2006, Vol. 140, pp. 1139–1141
- Guy C.L., (2003)**. Freezing tolerance of plants: current understanding and selected emerging concepts. *Canadian Journal of Botany*, 81 : 1216-1223.
- Heilmeyer H., Schulze E. D., Jiang F., Hartung W., (2007)**. General relations of stomatal responses to xylem sap abscisic acid under stress in the rooting zone: a global perspective. *Flora* 202, (in press).
- Heller R., Esnault R. Lance C., (2000)**. Physiologie végétale. 2. Développement. Dunod. 6^{ème} édition.
- Himmelbach A., Iten M., Grill E., (1998)**. Signalling of abscisic acid to regulate plant growth. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences* 353: 1439–44.
- Hinckley T.M. et Braatne J.H., (1994)**. Stomata. In: Plant-environment interactions. Edited by Annu. Rev. Plant Biol. 61, 561–591.
- Hopkins W. G., (2003)**. Physiologie végétale. Editions De Boeck Université : 451
- Ibrahim A.M.H. et Quick, J.S., (2001)**. Genetic control of high temperature tolerance in wheat as measured by membrane thermostability. *Crop Sci*. 41: 5, (1405-1407.).
- Iuchi S., Kobayashi M., Taji T., Naramoto M., Seki M., et al., (2001)**. Regulation of drought tolerance by gene manipulation of 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase, a key enzyme in abscisic acid biosynthesis in Arabidopsis. *The Plant Journal : For Cell and Molecular Biology* 27 : 325–33,
- Jalloul A., Clerivet A. et Nicole M., (2009)**. La signalisation hormonale dans la résistance des plantes aux bioagresseurs. *Cahiers d’Agriculture*. vol. 18 • N° 6 : 493-495.
- Jaouen G., (2002). Les régulateurs de croissance végétaux. UMR EcoFoG.
- Jiang F. et Hartung W., (2008)**. Long-distance signalling of abscisic acid (ABA): the factors regulating the intensity of the ABA signal. *Journal of Experimental Botany* ; 59. 37-43.
- Jiang K., Sorefan K., Deeks M.J., Bevan M.W., Hussey P.J. et Hetherington A.M., (2012)**. The ARP2/3 complex mediates guard cell actin reorganization and stomatal movement in Arabidopsis. *Plant Cell* 24, 2031-2040.
- Kadi Z., (2012)**. Sélection de l’orge (*hordeum vulgare* l.) Pour la tolérance aux stress abiotiques. Thèse de Doctorat. Université Ferhat Abbas Sétif.
- Kantety R.V., Diab A., Sorrells M.E., (2005)**. Contribution à la mise en place d’une approche intégrée de lutte contre la sécheresse chez le blé dur au Maroc In: Conxita,
- Keyvan S., (2010)**. The effects of drought stress on yield, relative water content, proline, soluble carbohydrates and chlorophyll of bread wheat cultivars. *Journal of Animal & Plant Science*. Vol 51. 4 : 601-617.

- Kiani P., (2007).** Analyse génétique des réponses physiologiques du tournesol (*Helianthus annuus L.*) soumis à la sécheresse. Thèse Doctorat de l'Institut National Polytechnique de Toulouse.
- Kim T.H., Boehmer M., Hu H., Nishimura N., Schroeder J.I., (2010).** Guard cell signal Guard Cell Signal Transduction Network: Advances in Understanding Abscisic Acid, CO₂, and Ca²⁺ Signaling. *Annu Rev Plant Biol.*; **61**: 561–591.
- Kitagawa Y., Hamamoto H., Oritani T., (1995).** Biosynthesis of abscisic acid in the fungus *Cercospora cruenta*: stimulation of biosynthesis by water stress and isolation of a transgenic mutant with reduced biosynthetic capacity. *Plant Cell Physiol* **36**: 557-564
- Klee H.J. et Romano C.P., (1994).** The roles of phytohormones in development as studied in transgenic plant. In *Critical Reviews in Plant Science*. Vol.13. pp.311-324.
- Knight H., (2000).** Calcium signaling during abiotic stress in plants. *International Review of Cytology*, 195: 269-325. 67.
- Kudla J., Batistič O., et Hashimoto K., (2010).** Calcium Signals: The Lead Currency of Plant Information Processing. *The Plant Cell Online* **22**, 541-563.
- Laala Z., (2009).** Analyse en chemin des relations entre le rendement en grains et les composantes chez des populations F3 de blé dur (*Triticum durum* Desf.) sous conditions semi-arides. Mémoire de magister, Dépt. Agron. Faculté des Sciences. Université Ferhat Abbas. Sétif.
- Lamaze T., Tousch D., Sarda X., Grignon C., Depigny-This D., Monneveux P., et Belhassen E., (1994).** Résistance de plantes a la sécheresse : mécanismes physiologiques. *Le sélectionneur Français* 45 : 75-85.
- Lee K.H., Piao H.L., Kim H.Y., Choi S.M., Jiang F., et al., (2006).** Activation of glucosidase via stress-induced polymerization rapidly increases active pools of abscisic acid. *Cell* 126 : 1109–20.
- Lefebvre V., (2005).** Caractérisation des gènes *AtNCED* impliqués dans la biosynthèse de l'acide abscissique dans la graine d'*Arabidopsis thaliana*. These de Doctorat. Institut National Agronomique. Paris-Grignon.
- Liotenberg S., North H. et Marion-Poll A., (1999).** Molecular biology and regulation of abscisic acid biosynthesis in plants. *Plant Physiology and Biochemistry*. 37 : 341–350.
- Liu Y., Bergervoet J.H.W., Vos C.H.R., Hilhorst H.W.M., Kraak H.L., et al., (1994).** Nuclear replication activities during imbibition of abscisic acid- and gibberellin-deficient tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seeds. *Planta* 194 : 368–373.
- Mahdid M., Kameli K., Ehlert C., Simonneau T., (2011).** Rapid changes in leaf elongation, ABA and water status during the recovery phase following application of water stress in two durum wheat varieties differing in drought tolerance. *Plant Physiology and Biochemistry* **49** . 1077-1083.
- Martinez J.P., Silva H. Ledent J.F. et Pinto M., (2007).** Effect of drought stress on the osmotic adjustment, cell wall elasticity and cell volume of six cultivars of common beans (*Phaseolus vulgaris L.*) *European journal of agronomy*. Jan., Vol. 26,1,p. 30-38.
- Mastrangelo A. M., Belloni S., Barilli S., Ruperti B., Di Fonzo N., Stanca A.M., Cattivelli L., (2005).** Low temperature promotes intron retention in tow *e-cor* genes of durum wheat. *Planta*, 221: 705-715.
- McAinsh N.g., C.K.Y., M.R., Gray J.E., Hunt L., Leckie C.P., Mills L., et al., (2001).** Calcium-based signalling systems in guard cells. *New Phytologist* **151**, 109-120.
- Meinzer F. C. et Grantz D. A., (1990).** Stomatal and hydraulic conductance in growing sugarcane: stomatal adjustment to water transport capacity. *Plant, Cell & Environment*. Vol 13; 383–388.
- Moore T. C., (1989).** *Biochemistry and physiology of plant hormones*, Springer, New York, 2° éd. p. 261, 1971 P.

- Nakashima K., Yamaguchi-Shinozaki K., (2013).** ABA signaling in stress-response and seed development. *Plant Cell Reports* **32**: 959–970.
- Nambara E. et Marion-Poll A., (2005).** Abscisic acid biosynthesis and catabolism. *Annual Review of Plant Biology* **56** : 165–85.
- North H.M., Almeida A.D., Boutin J.P., Frey A., To A., et al., (2007).** The Arabidopsis ABA-deficient mutant *aba4* demonstrates that the major route for stress-induced ABA accumulation is via neoxanthin isomers. *The Plant Journal : For Cell and Molecular Biology* **50** : 810–24.
- Oukarroum A., (2007).** Vitalité des plantes d’orge (*Hordeum vulgare* L.) en conditions de stress hydrique et thermique analysée par la fluorescence chlorophyllienne. Thèse doctorat. Université De Genève.
- Pandey S., Chen J.G., Jones A.M., et Assmann S.M., (2006).** G-Protein Complex Mutants Are Hypersensitive to Abscisic Acid Regulation of Germination and Postgermination Development. *Plant Physiology* **141**, 243-256.
- Park S.Y., Fung P., Nishimura N., et al., (2009).** Abscisic Acid Inhibits Type 2C Protein Phosphatases via the PYR/PYL Family of START Proteins. *Science* **324**, 1068-1071.
- Passioura J., (2004).** Increasing crop productivity when water is scarce: from breeding to field management. In proceedings of the 4th International Crop Science Congress "New directions for a diverse planet" Brisbane, Australia. P.12
- Peleg Z., et Blumwald E., (2011).** Hormone balance and abiotic stress tolerance in crop plants. *Current Opinion in Plant Biology*. In Press, Corrected Proof.
- Paul M., Planchon C. et Ecochard R., (1979).** Etude des relations entre le développement foliaire, le cycle de développement à la productivité chez le soja. *Ann Amélio.Plantes*. **29** (5) : 479-492.
- Rawson D.M., Willmer A.J., Turner A.P.P., (1993).** Whole-cell Biosensors for environmental monitoring. *Biosensors*, **4**: 299-311.
- Rejeb M.N.; Laffray D. et Louguet P., (1991).** Modification de la conductance stomatique de diverses origines tunisiennes de caroubier (*Certonia siliqua* L.) soumises à une contrainte hydrique prolongée. L’amélioration des plantes pour l’adaptation aux milieux arides Ed.AUPELFUREF. Johnlibbery euritext.Paris P :149-158
- Roeder V., (2006).** Recherche et étude de marqueurs moléculaires de la réponse au stress chez l’algue brune *Laminaria digitata* . Thèse doctorat. Université de Renne. pp 33-39.
- Saito S., Hirai N., Matsumoto C., Ohigashi H., Ohta D., et al., (2004).** Arabidopsis CYP707As encode (+)-abscisic acid 8’-hydroxylase, a key enzyme in the oxidative catabolism of abscisic acid. *Plant Physiology* **134** : 1439–49.
- Sanders P. F., et Wareing F., (1999).** Hormones and dormancy. In *Ann. Rev. Plant Physiol.*, n°22, p. 261.
- Seillac P., (1960).** Contribution à l’étude de la nutrition du pin maritime : variations saisonnières de la teneur des pseudophylles en azote, potassium et acide phosphorique. Thèse, univ Bordeaux, France.
- Seo M., Aoki H., Koiwai H., Kamiya Y., Nambara E., et Koshiba T., (2004).** Comparative Studies on the Arabidopsis Aldehyde Oxidase (AAO) Gene Family Revealed a Major Role of AAO3 in ABA Biosynthesis in Seeds. *Plant and Cell Physiology* **45**, 1694 1703.
- Seo M., et Koshiba T., (2002).** Complex regulation of ABA biosynthesis in plants. *Trend Plant Science*. Edition 7. pp 41-48.
- Schachtman D.P., Goodger J.Q., (2008).** Chemical root to shoot signaling under drought. *Trends Plant Sci* **13**, (6):281-7
- Shinozaki K. et Yamaguchi-Shinozaki K., (2007).** Gene networks involved in drought stress response and tolerance. *Journal of Experimental Botany*, **58**: 221–227.

- Slama A., Ben Salem M., Ben Naceur M., Zid E., (2005).** Les céréales en Tunisie : production, effet de la sécheresse et mécanismes de résistance (Inrat).16(3) : 225-229
- Tan B.C., Joseph L.M., Deng W.T., Liu L., Li Q.B., Cline K., et McCarty D.R., (2003).** Molecular characterization of the Arabidopsis 9-cis epoxycarotenoid dioxygenase gene family. *The Plant Journal* **35**, 44-56.
- Tardieu F., Zivy M. et Seguin F., (2006).** Amélioration génétique de la tolérance des cultures à la sécheresse. In *Sécheresse et agriculture. Réduire la vulnérabilité de l'agriculture à un risque accru de manque d'eau. Expertise collective scientifique. Rapport INRA. France.* 242-257.
- Thompson, Ellison et Wood, (2002).** Harmonized guidelines single laboratory validation of methods of analysis. *Pure applied chem.* pp 835-855.
- Tietz A. et Kasprik W., (1986).** Identification of abscisic acid in a green alga. *Biochem Physiol Pflanz* **181**: 269-274
- Todoroki Y., Narita K., Muramatsu T., Shimomura H., et al., (2011).** Synthesis and biological activity of amino acid conjugates of abscisic acid. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **19**, 1743-1750.
- Triboï E., (1990).** Modèle d'élaboration du poids du grain chez le blé tendre. *Agronomie*, 10 : 191-200.
- Umezawa T., Okamoto M., Kushiro T., Nambara E., Oono Y., et al., (2006).** CYP707A3, a major ABA 8' hydroxylase involved in dehydration and rehydration response in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal : For Cell and Molecular Biology* **46** : 171–82.
- Wang H. et Clarke J. M., (1993).** Genotypic, intraplant, and environmental variation in stomatal frequency and size in wheat. *Can. J. Plant Sci.* **73**: 671-678
- Wang W., Vinocur B., Shoseyov O., Altman A., (2004).** Role of plant heat-shock proteins and molecular chaperones in the abiotic stress response. *Trends Plant Sci* **9**: 244-252
- Wardlaw I.F., Dawson I.A., Munibi P., Fewster R., (1989).** The tolerance of wheat to high temperatures during reproductive growth. I Survey procedures and general response patterns. *Aust. J. Agric. Res.* **40**: 1-13.
- Wareint P.J. et Villaeres T.A., (1961).** Growth substances and inhibitor change in buds and seeds in response to chilling. *Plant growth regulation*, 4th. Inst. Conf. *
- Wasilewska A., Vlad F., Sirichandra C., Redko Y., Jammes F., et al., (2008).** An Update on Abscisic Acid Signaling in Plants and More. *Mol Plant* **1** : 198–217.
- Wilkinson S. et Davies W.J., (2010).** Drought, ozone, ABA and ethylene: new insights from cell to plant to community. *Plant, Cell & Environment*, **33** :510-525.
- Wise M.J., Tunnacliffe A. (2004).** POPP the question: what do LEA proteins do? *Trends Plant Sci* **9**:13–17
- Xiong L., Schumaker K.S., Zhu J.K., (2002).** Cell signaling during cold, drought, and salt stress. *The Plant Cell* **14 Suppl** : S165–83.
- Ykhlef K. Djakoun A., (2000).** Adaptation physiologique et résistance à la sécheresse chez le blé dur (*Triticum turgidum* L. var *durum*) : Analyse de la variabilité génétique. *Opion Méditerranéennes. Série A.* **40** : 327-330 pp.
- Ykhlef N. (2001).** Photosynthèse, Activité photochimique et tolérance au déficit hydrique chez le blé dur (*Triticum durum* ; Desf). Thèse de doctorat. Univ. Mentouri .Constantine.
- Yamaguchi-Shinozaki K. et Shinozaki K., (2005).** Organization of cisacting regulatory elements in osmotic- and cold-stress-responsive promoters. *Trends in Plant Science*, **10**: 88-94.
- Yokota A., Takahara K. et Akashi K., (2006).** Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants. Springer. pp: 15–39.

- Zeghida A., Amrani R., Djennadi F., Ameroun R., Khldoun A.A. & Belloucif M., (2004).** Etude de la variabilité de réponse des plantules de blé dur (*Triticum durum* Desf) à la salinité. *Céréaliculture*. ITGC. **42**. Constantine : 5p.
- Zhu J.K., (2002).** Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annual Review of Plant Biology* 53 : 247–73.
- Zhou R., Squires T. M., Ambrose S. J., Abrams S. R., et al., (2003).** Rapid extraction of ABA and its metabolites for liquid chromatography tandem mass spectrometry analysis. *Journal of Chromatography A* 1010: 75–85.

Annexes

Annexe 1 : taxonomie du blé dur

Taxonomie (Feillet, 2000)

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

Annexe 2 : solutions d'extraction de l'acide abscissique :

(A) Solution d'extraction :

Acétone : eau : acide acétique (80/19/1)

(B) Solvant de chromatographie :

Acétonitrile : eau (15/85) contenue 12mM acide acétique pH 3.3

Annexe 3 : solution d'extraction des protéines

(A) Solution de précipitation :

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

(B) Solution de rinçage:

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

(C) Tampon de dénaturation *Laemml* 2X :

0.5M Tris-HCL 6,8	1.25 ml
10 % SDS	2 ml
100% Glycérol	2.5 ml
β –mércaptoéthanol	500 μ l
0.5 % Bleu de Bromophénol	50m g
Eau qsp	9.5 ml

Annexe 4: solutions et tampons utilisés pour SDS-PAGE :**Solution mère d'acrylamide à 35%** (à préparer avec gants et masque)

Acrylamide	35 g
Eau distillée qsp	100 ml

Solution mère de bis acrylamide à 2% (à préparer avec gants et masque)

Bis acrylamide	2 g
Eau distillée qsp	100 ml

Solution stock de SDS à 10%

Sodium Dodécyl Sulfate	10 g
Eau distillée qsp	100 ml

Solution d'APS (Ammonium Persulfate) à 10% : à préparer extemporanément

APS	1 g
Eau distillée qsp	10 ml

Tampon Tris-HCl pH 8.8 (à préparer sous la hotte, avec gants et masque)

Tris (hydroxyméthyl aminomethan)	60.57 g
Eau distillée	400 ml
Ajuster à pH 8.8 avec du HCl fumant	8 à 10 ml
Eau distillée qsp	500 ml

Tampon Tris HCl pH 6.8 (à préparer sous la hotte, avec gants et masque)

Tris (hydroxyméthyl aminomethan)	30.285 g
Eau distillée	200 ml

Ajuster à pH 6.8 avec du HCl fumant	19.5 ml
Eau distillée qsp	250 ml

Tampon d'électrophorèse (solution de 2.5)

Glycine	35.275 g
Tris (hydroxyméthyl amino Ethan)	7.5 g
SDS	2.5 g
Eau distillée qsp	2500 ml

Solution de coloration

Solution mère de Bleu de Coomassie R-250	250 ml
Acide acétique	70 ml
Méthanol	400ml
Eau distillée qsp	1L

Solution de décoloration :

Méthanol	50ml
Acide acétique	70ml
Eau distillé qsq	1L

ANNEXES 5 : Préparation des gels**Gel de séparation (running gel) T= 15% et C = 0.027% (pour 4 gels)**

Bis acrylamide à 40%	$1.5 \times 4 = 9 \text{ ml}$
Eau distillée	$2.15 \times 4 = 8.6 \text{ ml}$
1.5M Tris – HCl pH 8.8	$1.5 \times 4 = 6 \text{ ml}$
SDS à 10%	$60 \times 4 = 240 \text{ } \mu\text{l}$
APS à 1%	$30 \times 4 = 120 \text{ } \mu\text{l}$
TEMED	$6 \times 4 = 24 \text{ } \mu\text{l}$

Gel de concentration (stacking gel) T= 4%

Bis acrylamide à 40%	$0.2 \times 4 = 0.8 \text{ ml}$
Eau distillée	$12.7 \times 4 = 5.08 \text{ ml}$
Tris – HCl pH 6.8	$0.5 \times 4 = 2 \text{ ml}$
SDS à 10%	$20 \times 4 = 80 \text{ } \mu\text{l}$
APS à 1%	$10 \times 4 = 40 \text{ } \mu\text{l}$
TEMED	$2 \times 4 = 8 \text{ } \mu\text{l}$

ANNEXES 6 : Tableaux d'analyse de variance des paramètres étudiés

Tableau 1 : Analyse de variance de la surface foliaire obtenu à partir des différents types de stress appliqués aux quatre variétés de blé dur.

a) Stress hydrique :

Source	Ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F	
variété	3	166,771	55,590	104,242	< 0,0001	***
traitement	2	59,165	29,582	55,472	< 0,0001	***
variété*traitement	6	7,005	1,167	2,189	0,080	NS

b) Stress thermique :

Source	Ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F	
variété	3	58,220	19,407	19,276	< 0,0001	***
traitement	2	431,464	215,732	214,283	< 0,0001	***
variété*traitement	6	32,212	5,369	5,333	0,001	***

Tableau 2 : Analyse de la variance de la teneur relative en eau obtenu à partir des différents types de stress appliqués aux quatre variétés de blé dur.

a) Stress hydrique :

Source	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F	
variété	3	601,705	200,568	7,432	0,000	***
traitement	4	4328,494	1082,123	40,098	< 0,0001	***
variété*traitement	12	2334,361	194,530	7,208	< 0,0001	***

b) Stress thermique :

Source	Ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F	
variété	3	856,859	285,620	9,983	0,000	***
traitement	2	4085,046	2042,523	71,393	< 0,0001	***
variété*traitement	6	1832,520	305,420	10,675	< 0,0001	***

Tableau 3 : Analyse de la variance de la stabilité membranaire obtenu à partir des différents types de stress appliqués aux quatre variétés de blé dur.

a) Stress hydrique :

Source	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F	
variété	3	127,180	42,393	56,477	< 0,0001	*** THS
traitement	2	109,239	54,620	72,765	< 0,0001	*** THS
variété*traitement	6	17,897	2,983	3,974	0,007	** HS

b) Stress thermique :

Source	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F	
variété	3	86,279	28,760	4,975	0,008	** HS
traitement	2	146,413	73,207	12,664	0,000	***THS
variété*traitement	6	51,482	8,580	1,484	0,226	NS

Tableau 4 : Analyse de la variance de la résistance stomatique obtenu à partir des différents types de stress appliqués aux quatre variétés de blé dur.

a) Stress hydrique :

Source	Ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F	
variété	3	208,376	69,459	11,812	< 0,0001	***
traitement	2	228,785	114,393	19,454	< 0,0001	***
variété*traitemen	6	119,513	19,919	3,387	0,015	*

b) Stress thermique :

Source	Ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F	
variété	3	196,286	65,429	24,020	< 0,0001	***
traitement	2	1664,989	832,494	305,621	< 0,0001	***
variété*traitement	6	72,324	12,054	4,425	0,004	**

*** : très hautement significatif ** : hautement significatif * : significatif

NS : non significatif

Nom & prénom: ABDI Sihem

ZITOUNI Amina

Date de soutenance : 22/06/2014

Dosage de l'acide abscissique en conditions de stress hydrique et thermique et étude des mécanismes de tolérances chez quelques variétés du blé dur (*Triticum durum* Desf.).

Nature du diplôme: Master en Biologie et Génomique Végétales

Résumé :

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

Notre étude s'intègre dans le cadre d'une recherche multidisciplinaire qui vise le comportement de quatre génotypes de blé dur (*Triticum durum* Desf.) sous deux niveaux de stress hydrique et thermique.

Simeto, Ofonto, Boussallem et Hedba3 ont été cultivés en hydroponique dont un stress hydrique de 4h et 24h ainsi qu'un stress thermique de 4° C et 45° C est appliqué après l'apparition de la quatrième feuille afin d'effectuer une multitude de mesure : la teneur en acide abscissique dans les feuilles et les racines des plantes dans chaque niveau de stress, en utilisant la technique de l'HPLC, la résistance stomatique, la stabilité membranaire, la teneur relative en eau, la surface foliaire et l'analyse électrophorétiques par SDS-PAGE des protéines totales foliaires.

Les résultats montrent que la tolérance du blé dur aux contraintes hydriques et thermiques en fait plusieurs mécanismes de protection déployés par les plantes proportionnelles à la gravité du stress et de sa durée. En outre, il s'est résulte que les quatre variétés suivent les mêmes stratégies de résistance ou de d'évitement face aux différents contraintes abiotiques.

Mots clés :

Blé dur, stress hydrique, stress thermique, ABA, HLPC, résistance stomatique, électrophorèse SDS-PAGE.

Laboratoire de recherche: Laboratoire de Génétique, Biochimie et Biotechnologies Végétales.

Equipe N°II "Biotechnologie et Amélioration des Plantes"

Membres de jury : Président (e): Dr. BOUSBA Ratiba

Encadreur : Pr. YKHLEF Nadia

Examineur : Mme MOUALEF Adra