

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

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

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



جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : de Biologie et Ecologie Végétale

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie et Génomique Végétale.

Intitulé :

**Effet du stress hydrique au stade de germination sur la croissance de
quelque génotype du blé dur (*Triticum durum* Desf.)**

Présenté et soutenu par : BOUAKEZ Dalal

Le : 16 /06/2015

HAMADOUCHE Ismahane

Jury d'évaluation :

Présidente du jury : Mme **YKHLEF Nadia**, Prof à l'UFM., Constantine.

Rapporteur : M^{elle}. **MOUELLEF Adra**, M.A.A à l'UFM., Constantine.

Examinatrice: Mme. **KACEM Nadia Sandra**, M.A.A à l'UFM., Constantine.

Année universitaire
2014 – 2015

Dédicace

À cœur vaillant rien d'impossible, a conscience tranquille tout est Accessible.

Je dédie ce travail

À

*Ma très chère honorable mère, qui représente pour moi le
Symbole de la bonté par excellence, je te dédie ce travail en
Témoignage de mon profond amour, puisse Dieu le tout puissant, te
Préserver et t'accorder santé.*

À

*Mon très cher père, aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour,
L'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour toi.
Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon
Education et mon bien être.*

Je souhaite de tout mon cœur que Dieu les garde près de moi

À

A mes frères : Hichem, Karim et Fateh

Et à mes sœurs : Mouna et Ilhem

Dalal

Dédicace

Je dédie ce travail à ma famille, je commence d'abord par mon très cher père,

Ma très chère mère,

J'espère qu'ils seront récompensés de tous les efforts

Qu'ils ont déployés pour mon éducation.

Je n'oublierai pas mes sœurs : Hala, Hadjer et Amel

Mon beau-frère Amer.

Mes neveux : mouayed et ranime.

Je dédie ce mémoire particulièrement à mes chères amies :

Amina, Fatima et sourour

Et à toute ma famille.

Ismahane

Remerciements

Tout d'abord, grâce à ALWWAHID qui nous a créé, nous a protégé, qui est toujours avec nous qu'il ne nous laisse jamais seule. Louanges à **ALLAH**.

Nous voudrions remercier du fond du cœur M^{elle} **MOUELLEF Adra**, maitre assistante à l'université des frères Mentouri, qui a encadré cette étude au quotidien.

Elle fut toujours présente, en particulier lorsque nous sommes confrontées au doute, nous lui sommes reconnaissantes pour sa grande disponibilité, son ouverture d'esprit, son dynamisme et son optimisme, ainsi que pour ses multiples et précieux conseils scientifiques, professionnels ou tout simplement humains.

Nous tenons à remercier les membres de jury :

Mme **YKHLEF Nadia**, professeur à l'université des frères Mentouri Constantine pour avoir bien voulu présider le jury.

Mme **KACEM Nadia Sandra**, maitre assistante à l'université des frères Mentouri Constantine pour examiner et juger ce travail.

Nous tenons à remercier le professeur **Djekoun A**, chef d'équipe de recherche de Biotechnologie et Amélioration des Plantes au niveau de laboratoire Génétique Biochimie et Biotechnologie Végétale (GBBV).

Nous tenons particulièrement à remercier : Monsieur **Belbakri N** et Mme **Bouldjadj R** Ingénieurs de laboratoire (GBBV) pour son aide.

Toute ma gratitude à mes collègues de promotion ainsi qu'à d'autres étudiants.

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.

La phase de germination constitue l'une des étapes les plus sensibles aux effets engendrés par ces stress. Le travail présenté traite les impacts du déficit hydrique exprimés par l'abaissement du potentiel hydrique du milieu sur les principales phases de la germination. Deux niveaux de potentiel osmotique provoqués par des solutions de PEG 6000 avec un témoin ont été adoptés dans les milieux de germination des graines de six génotypes d'origine locale et introduit.

Les résultats obtenus démontrent que l'abaissement du potentiel osmotique réduit significativement la germination des graines, la teneur moyenne en eau et la croissance en longueur de la radicule et de la partie aérienne.

D'autre part l'analyse électrophorétique par SDS-PAGE des protéines totales foliaires, montrent que le stress hydrique a inhibés certaines protéines et a induit quelques nouvelles, alors que d'autres ont été présentes chez les témoins et les stressées.

L'étude a montré que le comportement des génotypes n'est pas associée à une réaction physiologique ou biochimique isolée de la variété, mais à une stratégie englobant un ou plusieurs mécanismes de tolérance et (ou) d'évitement de la contrainte hydrique.

Mots clés :

Blé dur, stade germinatif, stress hydrique, PEG 6000, électrophorèse SDS-PAGE.

Summary:

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

The germination phase is one of the most sensitive to the effects caused by the stress steps. The present work deals with the impact of water deficit expressed by lowering the water potential of the medium on the realization of the main phases of germination. Two levels of osmotic potential caused by PEG 6000 solutions with control have been adopted in the areas of seed germination of six genotypes of local origin and introduced.

The results show that lowering the osmotic potential significantly reduced seed germination, the average content of water and growth in length of the radicle and the aerial part.

Furthermore electrophoretic analysis by SDS-PAGE leaf total protein, showed that water stress has inhibited certain proteins and induced some new, while the other has been present in the controls and stressed.

The study showed that the behavior of the genotypes is not associated to a physiological or biochemical reaction isolated from the variety, but a strategy encompassing one or more tolerance mechanisms and (or) avoidance of water stress.

Keywords:

Durum wheat, germinal stage, water stress, PEG 6000, SDS-PAGE electrophoresis.

ملخص

تعتبر زراعة القمح الصلب من الزراعة الاستراتيجية في الجزائر. ومع ذلك، فإن نمو هذه الزراعة وتحسين مردودها محدود بسبب نقص المياه ودرجة حرارة غير مناسبة.

مرحلة الإنبات من أهم المراحل الحساسة التي تتأثر بهذا النقص. لذلك قمنا بدراسة نقص الماء المترجم بانخفاض الكمون المائي للوسط على القمح خلال مراحل الانبات. مستويين من الكمون الحلولي متشكلة من محاليل PEG6000 وشاهد في اوساط إنبات البذور من ستة انماط جينية ذات المنشأ المحلي و المستورد.

بينت النتائج أن الخفض من الكمون الحلولي يسبب انخفاضاً كبيراً في إنبات البذور، محتوى المياه والنمو في طول الجذير والجزء العلوي

الجزء الاخر، تحليل البروتينات SDS-PAGE أظهرت أن الاجهاد المائي يمنع بعض البروتينات و يحفز بعضها الجديد، في حين بعض الآخر يكون حاضرا عند الشاهد و الاجهاد

أظهرت الدراسة أن سلوك المورثات لا يرتبط برد فعل فسيولوجيا أو الكيمياء الحيوية معزولة عن صنف، ولكن استراتيجية الشاملة واحد أو أكثر من تقنيات المقاومة و تجنب الإجهاد المائي

الكلمات المفتاحية

PEG 6000، القمح الصلب، مرحلة الإنبات، الإجهاد المائي، الهجرة الكهربائية

Abréviations :

% G : Pourcentage de Germination

APS : persulfate d'ammonium.

BBP : bleu de bromophénol.

C % : "cross-linking", Bisacrylamide (g) / (Acrylamide+Bisacrylamide) (g) x100.

cm : Centimètre

DTT : dithiothréitol.

Heb3 : Hedba3

ITGC : Institut Technique des Grandes Cultures.

KDa : kilo dalton.

ma : milliampère.

mn : minute.

Ofan : Ofanto

PEG : polyéthylène glycol.

PM : poids moléculaire.

qsp : quantité suffisante pour.

R (PF/PS) : Rapport Poids Frais/Poids Sec

RAH : Rahouia80.

rpm : rotation par minute.

SDS-PAGE : Sodium Dodécylsulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis.

sec : seconde.

Sime : Simeto

T % : «concentration totale » Acrylamide + Bisacrylamide (g)/Total x 100.

TCA : acide trichloroacétique.

TEMED : tétraméthyl-éthylène-diamine.

TME : Teneur Moyenne en Eau.

Tris : tris-hydroxyméthyl-aminométhane.

W : Waha

Liste des figures :

Fig.01 : Origine et diffusion de <i>Triticum turgidum</i>	4
Fig.02 : Les différents stades de développement du blé.....	8
Fig. 03 : Coupe d'un grain de blé.....	10
Fig. 04 : Courbe théorique de la germination.....	11
Fig. 05 : Germination de grain du blé.....	13
Fig.06 : Dispositif expérimental.....	21
Fig.07 : La migration des protéines totales sur gel d'acrylamide 15%.....	25
Fig. 08 : Variation du taux de germination final chez six génotypes de blé dur en fonction de l'intensité du stress hydrique.....	27
Fig. 09 : Variation de teneur moyenne en eau chez six génotypes de blé dur en fonction de l'intensité du stress hydrique.....	28
Fig .10 : Variation de longueur de partie aérienne chez six génotypes de blé dur en fonction de l'intensité du stress hydrique.....	31
Fig. 11 : Variation de longueur des racines chez six génotypes de blé dur en fonction de l'intensité du stress hydrique.....	33
Fig. 12 : Variation du rapport PFP/PSP chez six génotypes de blé dur en fonction de l'intensité du stress hydrique.....	34
Fig.13 : Profil électrophorétique SDS-PAGE des protéines totales des trois génotypes du blé dur soumis à un stress hydrique.....	37
Fig.14 : Profil électrophorétique SDS-PAGE des protéines totales des trois génotypes du blé dur soumis à un stress hydrique.....	38

Liste des tableaux :

Tab.01 : Les géotypes étudiés et leurs origines.....	20
Tab.02 : Analyse de variance du taux de germination obtenue à partir des différents types de stress appliqués aux six variétés de blé dur.....	27
Tab.03 : Analyse de variance de teneur moyenne en eau obtenue à partir des différents types de stress appliqués aux six variétés de blé dur.....	29
Tab.04 : Analyse de variance de longueur de partie aérienne obtenue à partir des différents types de stress appliqués aux six variétés de blé dur.....	31
Tab.05 : Analyse de variance de longueur des racines obtenue à partir des différents types de stress appliqués aux six variétés de blé dur.....	33
Tab.06 : Analyse de variance de rapport PFP/PSP obtenue à partir des différents types de stress appliqués aux six variétés de blé dur.....	35

Sommaire

Introduction.....	1
CHAPITRE I : Revues bibliographiques	
1. Le blé dur.....	3
1.1. Classification botanique et description morphologique de la plante.....	3
1.2. Origines géographique et génétique du blé dur.....	4
1.3. Importance et production du blé dans le monde et en Algérie.....	5
1.4 Cycle de développement du blé dur.....	6
1.4.1. La période végétative.....	6
➤ Stade de germination.....	6
➤ Stade levé.....	6
➤ Stade tallage.....	6
1.4.2. La période reproduction.....	6
➤ Stade montaison–gonflement.....	6
➤ Stade épiaison–floraison.....	7
➤ Stade de remplissage du grain.....	7
2. La germination.....	9
2.1. Définition.....	9
2.2. Composition de grain du blé.....	9
2.2.1. Les enveloppes.....	9
2.2.2. Le germe.....	10
2.2.3. L’albumen ou amande.....	10
2.3. Condition de germination.....	11
2.3.1. Facteurs externes de germination.....	11
2.4. Physiologie de la germination.....	11
2.4.1. Phase 1.....	12
2.4.2. Phase 2.....	12
2.4.3. Phase 3.....	12
2.5. La biochimie de germination.....	14
2.5.1. Les réserves amylacées : L’amidon.....	14
2.5.1. La dégradation de l’amidon.....	14
2.5.3. Hétérogénéité de la germination.....	15
3. Le stress hydrique : effets et stratégies d’adaptation.....	15
3.1. Effet du stress hydrique sur la germination.....	16
4. Mécanisme de résistance à la sécheresse.....	16
5. La synthèse des protéines liées à la tolérance au stress hydrique.....	18
5.1. Les protéines de type LEA « Late-Embryogenesis-Abundant ».....	18
5.2. Les aquaporines.....	19
CHAPITRE II : Matériel et méthodes	
1. Matériel végétal.....	20
2. Mise en place de l’essai.....	20
3. Le plan expérimental.....	20
3.1. Préparation des solutions de PEG.....	20
3.2. Mise à germination et disposition de l’essai.....	21
4. Les paramètres étudiés.....	22
4.1. Paramètres physiologiques.....	22

4.1.1. Taux de germination (G%).....	22
4.1.2. 1.1.1. Teneur moyenne en eau (TME %).....	22
4.2. Paramètres morphologiques.....	22
4.2.1. Longueur de racine (cm).....	22
4.2.2. Longueur de partie aérienne (cm).....	23
4.2.3. Rapport poids frais de la plante/Poids frais de la plante (PFP/PSP).....	23
4.3. Paramètre biochimique : L'analyse des protéines totales par SDS-PAGE.....	23
4.3.1. Principe de l'électrophorèse monodimensionnelle.....	23
4.3.2. Extraction des protéines totales.....	24
4.3.3. Dépôts des échantillons et migration dans le gel.....	24
4.3.4. Fixation et coloration	25
5. Traitement des données.....	25
CHAPITRE III : Résultats et discussion	
1. Analyse des paramètres physiologiques.....	26
1.1. Analyse du taux de germination finale.....	26
1.2. Analyse de teneur moyenne en eau.....	28
2. Analyse des paramètres morphologiques.....	30
2.1. Analyse de longueur de partie aérienne.....	30
2.2. Analyse de longueur de partie racinaire.....	31
2.3. Analyse de rapport PFP/PSP.....	33
3. L'analyse des protéines totales.....	36
Conclusion et perspectives.....	39
Références Bibliographiques.	41
Annexes	47

Introduction

Introduction :

Les céréales constituent une part importante des ressources alimentaires de l'homme et de l'animal (Karakas et *al.*, 2011). Parmi ces céréales, le blé dur (*Triticum durum* Desf.) compte parmi les espèces les plus anciennes et constitue une grande partie de l'alimentation de l'humanité. En plus de son intérêt comme une des principales céréales apportant l'énergie dans l'alimentation, le blé est aussi une source importante de protéines dans les pays en voie de développement.

En Algérie le blé occupe une place primordiale dans le système agricole voir plus de 3 millions d'hectares. Les grains du blé dur servent principalement à la fabrication de semoule, matière première des pâtes alimentaires, des pains et des galettes (Feillet, 2000). La consommation du blé augmente rapidement, principalement du fait de la croissance du nombre de consommateurs. La productivité nationale est faible pour satisfaire les besoins exprimés. Ce déséquilibre intègre notre pays parmi les plus grands importateurs de ce produit à partir des différents marchés mondiaux.

Les faibles productions s'expliquent principalement par les faibles rendements enregistrés pendant les différentes campagnes. En Algérie le climat est caractérisé par l'irrégularité de la pluviosité dans le temps et dans l'espace ainsi que par une tendance vers plus d'aridité et donc un impact accru des sécheresses. Ces dernières sont considérées comme les facteurs d'une perte partielle ou totale de production, en particulier dans le cas des céréales (Hassani *et al.*, 2008).

Toute stratégie visant à améliorer les niveaux de production de cette espèce, repose impérativement sur la qualité des solutions à apporter aux problèmes évoqués. La lutte contre les effets de la sécheresse par le recours à la culture des cultivars tolérants au déficit hydrique se montre comme la solution la plus judicieuse pour l'époque actuelle. L'obtention de ces génotypes repose sur la réalisation des programmes d'amélioration génétique, où la détermination des critères servant à la création de la variabilité génétique et sa sélection, constitue une étape primaire et déterminante pour accroître l'efficacité de ces travaux.

La phase de germination constitue une étape primordiale dans l'installation des cultures et sur laquelle repose la réalisation de la croissance précoce des plantes et le mode de déroulement des stades ultérieures de développement. L'eau constitue un élément principal et déterminant dans le déroulement du processus de la germination des graines. Le passage de la vie latente des graines desséchées à la vie active, est conditionné par une absorption massive

de l'eau, dont la quantité et la qualité influent grandement la réalisation de ce processus. L'activation du processus métabolique au niveau des graines en germination est gérée par le potentiel hydrique interne de ces organes et dont l'eau constitue l'élément moteur de sa régulation.

Différents travaux démontrent que le déficit hydrique constitue le principal stress qui réduit significativement le déroulement optimal de la germination. L'abaissement du potentiel du milieu de germination traduit une réduction prononcée de la prise d'eau par les graines en germination. La germination caractérisée sur le plan morphologique par la percée des téguments par la radicule n'est en fait qu'un processus de croissance des cellules méristématiques radiculaires, où la turgescence constitue l'élément moteur de son déclenchement (Schiefelbein et *al.*, 1997). Sur le plan physiologique, le déficit hydrique perturbe grandement la synthèse des protéines et limite par conséquent la remobilisation des réserves glucidiques, substances énergétiques emmagasinées sous forme d'amidon au niveau des graines desséchées. La sélection des paramètres limitant l'impact du déficit hydrique sur le déroulement des différentes phases de la germination constitue un objectif primordial dans tout travail d'amélioration visant à améliorer les aptitudes de tolérance à ce stress chez le blé dur.

L'objectif de ce présent travail consiste à une analyse du comportement de six génotypes de blé dur soumis à un stress hydrique au stade germinatif, en effectuant une étude comparative de quelques mécanismes de tolérance.

Le travail est structuré en trois parties. Dans une première sont exposées les différentes recherches réalisées dans cette problématique. Dans une seconde partie sont présentées les méthodes expérimentales employées. Enfin une dernière partie est consacrée à la présentation des résultats obtenus ainsi que leur interprétation.

Chapitre I : Revues bibliographiques

1. Le blé dur :

1.1. Classification botanique et description morphologique de la plante :

Le blé dur (*Triticum turgidum ssp. durum*) est une plante annuelle Spermaphytes, de sous embranchement Angiospermes de la classe de Monocotylédones de la famille poaceae, de la tribu des Triticées et du genre *Triticum* (Feillet, 2000). En termes de production commerciale et d'alimentation humaine, cette espèce est la deuxième plus importante du genre *Triticum* après le blé tendre. Leur famille comprend 600 genres et plus de 5000 espèces (Feillet, 2000).

Il s'agit d'une graminée annuelle de hauteur moyenne et dont le limbe des feuilles est aplati. L'inflorescence en épi terminal se compose de fleurs parfaites (Soltner, 1998). Le système racinaire comprend des racines séminales produites par la plantule durant la levée, ainsi que des racines adventives qui se forment plus tard à partir des nœuds à la base de la plante et constituent le système racinaire permanent (Bozzini, 1988).

Le blé dur possède une tige cylindrique, dressée, habituellement creuse et subdivisée en entrenœuds. Certaines variétés possèdent toutefois des tiges pleines. Le chaume (talles) se forme à partir de bourgeons axillaires aux nœuds à la base de la tige principale. Le nombre de brins dépend de la variété, des conditions de croissance et de la densité de plantation (Clark et al, 2002). Comme pour d'autres graminées, les feuilles de blé dur se composent d'une base (gaine) entourant la tige, d'une partie terminale qui s'aligne avec les nervures parallèles et d'une extrémité pointue. Au point d'attache de la gaine de la feuille se trouve une membrane mince et transparente (ligule) comportant deux petits appendices latéraux (oreillettes)

La tige principale et chaque brin portent une inflorescence en épi terminal. L'inflorescence du blé dur est un épi muni d'un rachis portant des épillets séparés par de courts entrenœuds (Soltner, 1998). Chaque épillet compte deux glumes (bractées) renfermant de deux à cinq fleurs distiques sur une rachéole.

Chaque fleur parfaite est renfermée dans des structures semblables à des bractées, soit la glumelle inférieure (lemma ou lemme) et la glumelle supérieure (paléa). Chacune compte trois étamines à anthères biloculaires, ainsi qu'un pistil à deux styles à stigmates plumeux. À maturité, le grain de pollen fusiforme contient habituellement trois noyaux. Chaque fleur peut produire un fruit à une seule graine, soit le caryopse (Bozzini, 1988). Chaque graine contient un large endosperme et un embryon aplati situé à l'apex de la graine et à proximité de la base de la fleur (Soltner, 1998).

1.2. Origines géographique et génétique du blé dur :

La découverte du blé remonte à 15000 ans avant Jésus-Christ dans la région du croissant fertile, vaste territoire comprenant, la vallée du Jourdain et des zones adjacentes de Palestine, de la Jordanie, de l'Iraq, et la bordure Ouest de l'Iran (Ouanzar S, 2012).

La base de divers éléments botaniques, génétiques et archéologiques, que le creuset de notre céréaliculture se situerait en une zone plus limitée « Croissant fertile », localisée autour de l'amont du Tigre et de l'Euphrate, dans des territoires actuels de la Syrie et de la Turquie. On croit que le blé dur provient des territoires actuels de la Turquie, de la Syrie, de l'Iraq et de l'Iran (Feldman, 2001; Mouellef, 2010). Bonjean et Picard, 1990, affirment que le monde Romain a largement contribué à la diffusion des céréales du bassin méditerranéen vers l'Europe centrale et l'Europe de l'Ouest. (Figure.01)

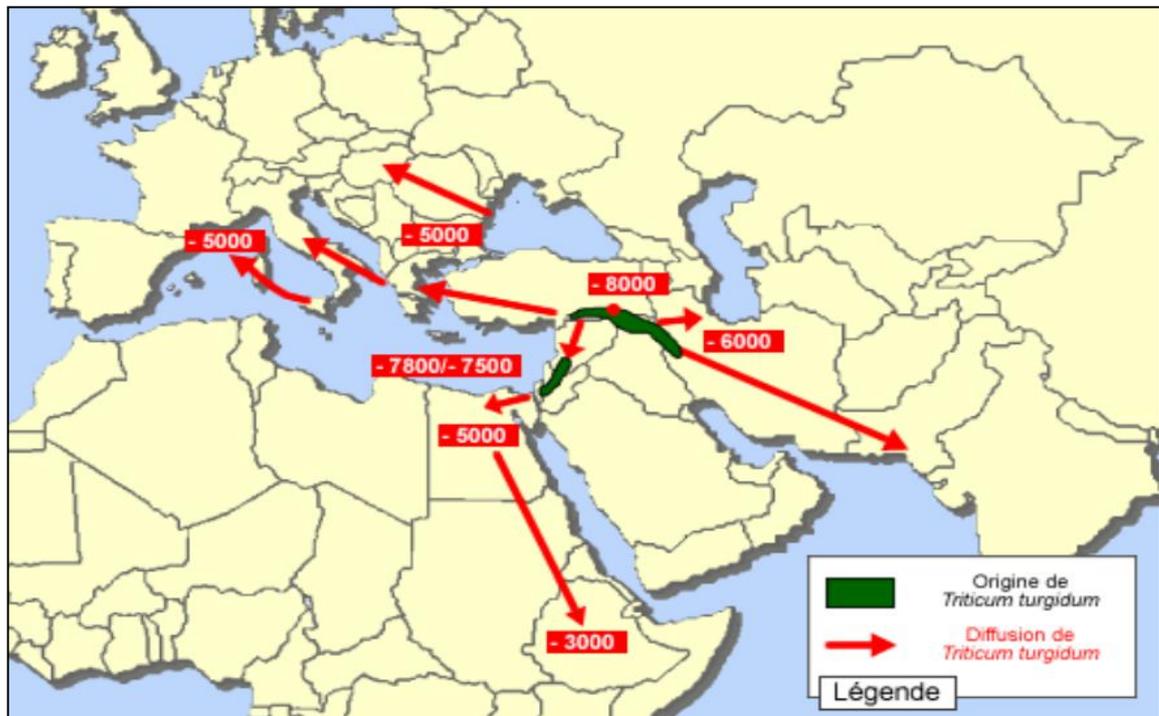


Figure. 01 : Origine et diffusion de *Triticum turgidum* (Bonjean, 2001).

Le blé dur est allotétraploïde (deux génomes : AABB), comptant au total 28 chromosomes ($2n=4x=28$), contenant le complément diploïde complet des chromosomes de chacune des espèces souches. Comme telle, chaque paire de chromosomes du génome (A) a une paire de chromosomes homologues dans le génome (B), à laquelle elle est étroitement apparentée.

D'un point de vue phylogénétique le blé dur est issu de deux hybridations interspécifiques suivi d'un doublement chromosomique. Le croisement entre *Triticum*

monococcum (A) et un *Aegilops* (B) a donné un individu de structure génomique (AB) avec 14 chromosomes. Après doublement chromosomique est apparu *Triticum turgidum ssp. dicoccoides* (AA BB) ancêtre du blé dur, qui a ensuite progressivement évolué vers *Triticum turgidum ssp. dicoccum* puis vers *Triticum durum* (blé dur cultivé) (Chapman, 2009).

1.3. Importance et production du blé dans le monde et en Algérie :

Le blé occupe la première place pour la production mondiale et la deuxième après le riz, comme source de nourriture pour les populations humaines, il assure 15% de ses besoins énergétiques (Bajji, 1999). Il représente 30% de la production mondiale des céréales et 20% de la ration alimentaire consommée par la population mondiale.

La production mondiale de blé fut en croissance constante durant les cinquante dernières années et s'élève pour la campagne 2011-2012 à 691,5 millions de tonnes (Terrones et Burny, 2012). La consommation totale est stable et se maintient à 688 millions de tonnes en 2014 du fait d'une contraction de 2 % que connaît l'utilisation aux fins de l'alimentation animale et 1,4 % de l'utilisation aux fins de l'alimentation humaine (Anonyme A, 2014). Les stocks de blé devraient atteindre 180 millions de tonnes en 2014, soit une hausse de 14 % (22 millions de tonnes) par rapport à 2013 (Anonyme A, 2014).

En Algérie, le blé dur, est la première céréale cultivée dans le pays. Elle occupe annuellement une superficie d'environ 3,4 millions ha (Anonyme C, 2013), concentrée essentiellement dans la région des Hauts Plateaux dont on peut citer Oum Et. Bouaghi, Tiaret, Sétif. Souk Ahras, Tébessa, Constantine, Sidi Bel Abbes et Saida etc. (Fritas S. 2012).

Les besoins de l'Algérie en céréales sont estimés à environ 8 millions de tonnes par an. L'Algérie est l'un des premiers importateurs de blé au monde, notamment le blé tendre, la demande locale reste importante (Anonyme D, 2013). La consommation Algérienne consacre une part importante de leur budget à l'alimentation 42% en moyenne en 2011. Les importations Algériennes de blé ont atteint 543,96 millions de dollars durant le premier trimestre 2014 (Anonyme E, 2014).

1.4. Cycle de développement du blé dur:

Le cycle biologique du blé est une succession de périodes subdivisées en phases et en stades. (Figure.02)

1.4.1. La période végétative :

Elle se caractérise par un développement strictement herbacé et s'étend du semis jusqu'à fin tallage. Elle se divise en trois stades:

➤ **Stade de germination :**

La germination du blé a lieu à des températures de 4-37°C, le coléoptile apparaît 4-6 jours après la germination, le coléoptile a pour rôle de protéger la première feuille (Rorat, 2006).

➤ **Stade levé :**

La levée se fait réellement dès la sortie des feuilles à la surface du sol. La levée est notée quand 50% des plantes sont sorties de la terre. Pendant cette phase, les jeunes plantes sont sensibles au manque d'eau qui provoque une perte des plantes et au froid qui provoque le déchaussage (Karou et al. 1998).

➤ **Stade tallage :**

La production des tallages commence à l'issue du développement de la troisième feuille. L'apparition de ces talles se fait à un rythme régulier égal à celui de l'émission des feuilles. Cette étape marque la fin de la période végétative et le début de la phase reproductive, conditionnée par la photopériode et la vernalisation qui autorisent l'élongation des entre-nœuds (Gates, 1995).

1.4.2. La période reproductrice :

➤ **Stade montaison – gonflement :**

La montaison débute à la fin du tallage, elle est caractérisée par l'allongement des entre-nœuds et la différenciation des pièces florales. À ce stade, un certain nombre de talles herbacées commence à régresser alors que, d'autres se trouvent couronnées par des épis. Pendant ce stade de croissance active, les besoins en éléments nutritifs notamment en azote sont accrus (Mazouz, 2006). La montaison s'achève à la fin de l'émission de la dernière feuille et des manifestations du gonflement que provoquent les épis dans la gaine.

➤ **Stade épiaison – floraison :**

Durant l'épiaison, les épis apparaissent à l'extérieur des tiges. Ce stade est terminé lorsque l'épi du maître brin est complètement sorti hors de la gaine, suivie d'une floraison qui peut durer de trois à six jours, selon les conditions météorologiques. Elle débute habituellement juste au-dessus du centre de l'épi, puis se poursuit en s'étendant vers l'apex et la base de l'épi (Rorat, 2006).

➤ **Stade de remplissage du grain :**

Après la fécondation, l'évolution du poids du grain se fait en trois étapes. La première est une phase de multiplication des cellules du jeune grain encore vert, dont la teneur en eau

est élevée. Suit la phase de remplissage actif du grain avec les assimilats provenant de la photosynthèse de la feuille étendard et du transfert des hydrates de carbones non structuraux stockés dans le col de l'épi. La quantité d'eau contenue dans le grain tend à se stabiliser : c'est le pallier hydrique.

Les fortes températures au cours de cette période provoquent l'arrêt de la migration des réserves des feuilles et de la tige vers le grain : c'est l'échaudage du grain. Puis suit la phase de dessèchement du grain, qui perd de son humidité pour atteindre son poids sec final (Wardlaw, 2002).

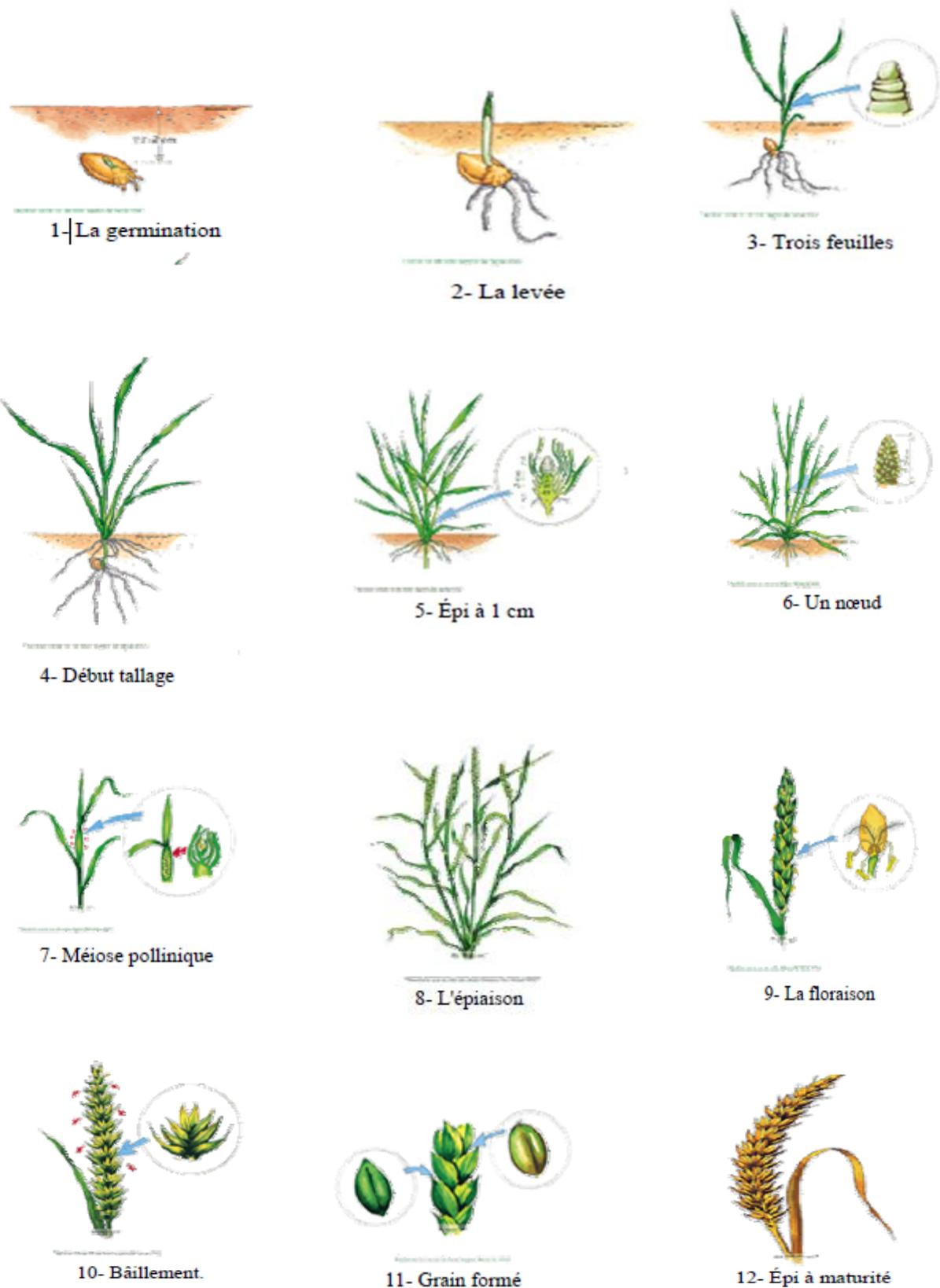


Figure. 02 : Les différents stades de développement du blé (Ait Slimane et Ait Kaki, 2008).

2. La germination :

2.1. Définition:

La germination est le premier stade du cycle de vie des plantes pour produire une nouvelle génération. (Aya et *al.*, 2011).

La germination est définie comme étant l'émergence de la radicule et le développement qui amènent la graine au stade auquel son aspect indiquera si elle pourra se développer en une plante normale dans des conditions ambiantes favorables (Bacchetta et *al.*, 2006; Aya et *a.l.*, 2011). La germination des graines est un phénomène naturel qui intervient lorsque des semences sont imbibées d'eau dans des conditions favorables de température, d'oxygénation et d'obscurité (Baumgartner et Emonet, 2007 ; Bensaadi , 2011).

La germination est définie comme la somme des événements qui conduisent la graine sèche à germer. C'est le passage de la graine à la vie active, sous l'effet de facteurs favorables, elle commence par la prise d'eau et se termine par l'allongement de l'axe embryonnaire (Hopkins ,200 ; Boumia , 2011).

Selon Labbe, (2004), la germination se traduit par une activation des activités enzymatiques dans toutes les parties de la graine (embryon et tissus de réserve), conduisant à la croissance de l'embryon et à la constitution d'un germe.

La germination est l'ensemble des événements qui commencent par l'étape cruciale d'absorption de l'eau par la graine (Mihoub et *al.*, 2005) et se terminent par l'élongation de l'axe embryonnaire et l'émergence de la radicule à travers les structures qui entourent l'embryon.

2.2. Composition de grain du blé :

Le blé est un fruit sec et indéhiscent contenant la graine, appelé « caryopse ». La coupe longitudinale de grain révèle de l'extérieure les parties suivantes : les enveloppes, le germe et l'albumen ou amande (Pomeranz, 1988) (Figure.03).

2.2.1. Les enveloppes : Elles représentent 14 à 16 % du poids du grain. Elles sont constituées de l'extérieur vers l'intérieur par :

- **Le péricarpe** : parois de l'ovaire qui comprend l'épicarpe, le mésocarpe et l'endocarpe.
- **Le tégument** : enveloppe de la graine qui comprend le tégument séminal et la bande hyaline.
- **L'assise protéique** : qui représente 60% du poids des enveloppes et constituée des

cellules à aleurones, riches en protéines (Soltner, 1987)

2.2.2. Le germe : Il représente 2,5 à 3 % du grain et comprend :

- Le cotylédon ou scutellum, séparé de l'amande par une assise diastasiq ue destinée à la digestion future de l'albumen au profit de la plantule.
- La plantule, avec sa gemmule recouverte d'un étui, le coléoptile, sa tigelle courte, et sa radicule, recouverte d'un étui, la coléorhize.

Le germe est très riche en matières grasses, matières azotées et vitamines A, E et B (Soltner, 1987)

2.2.3. L'albumen ou amande : Il représente 83 à 85 % du poids du grain (Pomeranz, 1988), est composé de 70% d'amidon et de 7% de gluten. Chez le blé dur l'albumen est corné et vitreux, un peu comme celui du riz.

L'albumen joue un rôle essentiel dans la composition de la semence ; il sert de réserve et ne sera complètement utilisé qu'au moment de la germination (Guergah, 1997).

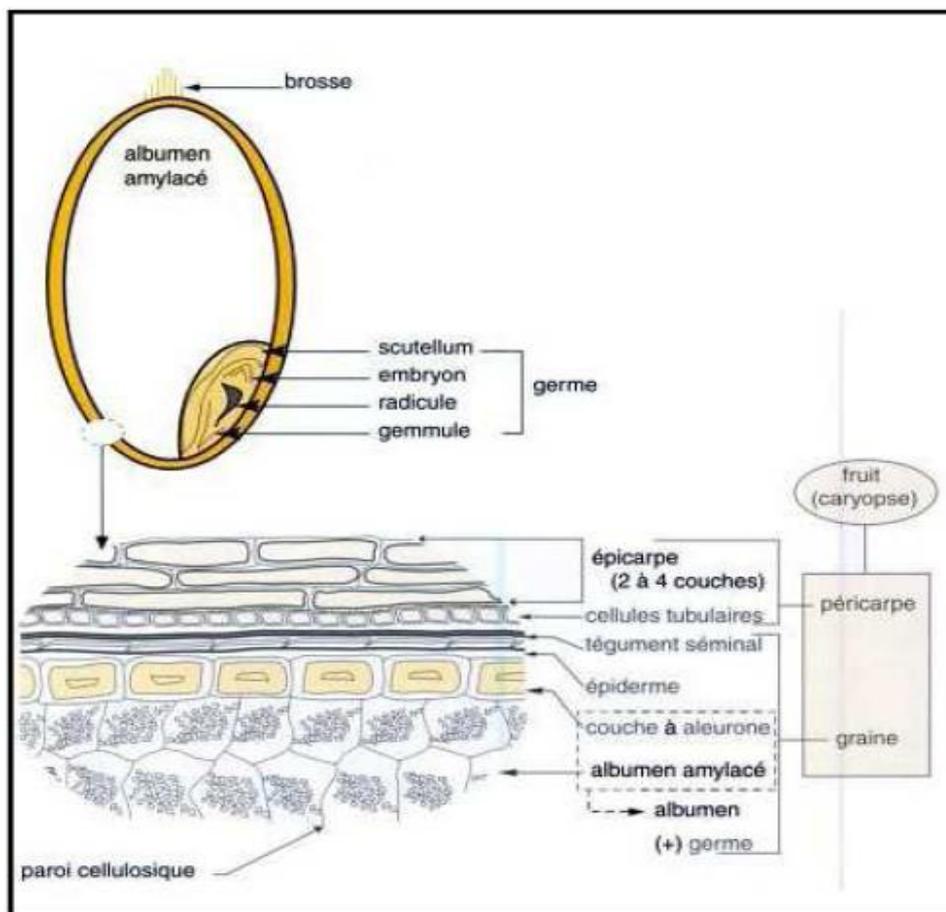


Figure. 03 : Coupe d'un grain de blé (Feliét, 2000).

2.3. Condition de germination :

L'induction de la germination n'est possible que si certaines conditions sont respectées.

2.3.1. Facteurs externes de germination :

La germination ne peut avoir lieu que si l'eau, la température et l'oxygène sont assurées.

➤ L'Eau :

L'eau est évidemment indispensable et doit être disponible dans le milieu extérieur en quantité suffisante (Heller et *al.*, 2004). L'eau dissout l'oxygène et lui permet d'atteindre l'embryon (Chaux et Foury, 1994). L'absorption de l'eau par la semence s'effectue par osmose, au travers du tégument qui lui-même plus au moins cellulosique en retient des quantités importantes (Bensaadi, 2011).

➤ L'oxygène :

Seul l'oxygène dissous dans l'eau d'imbibition est utilisé par l'embryon pour ces besoins métaboliques. Ce gaz étant très peu soluble dans l'eau. La germination engage de nombreuses oxydations ; les semences germent dans l'eau courante seulement (Bensaadi N, 2011).

➤ La température :

Il existe pour chaque plante et chaque phase de végétation des températures minima, optima et maxima (Bensaadi, 2011). Quand la température s'élève, la vitesse de germination croît (Gate et Giban, 2003).

2.4. Physiologie de la germination :

La germination des graines comprend trois principales phases :

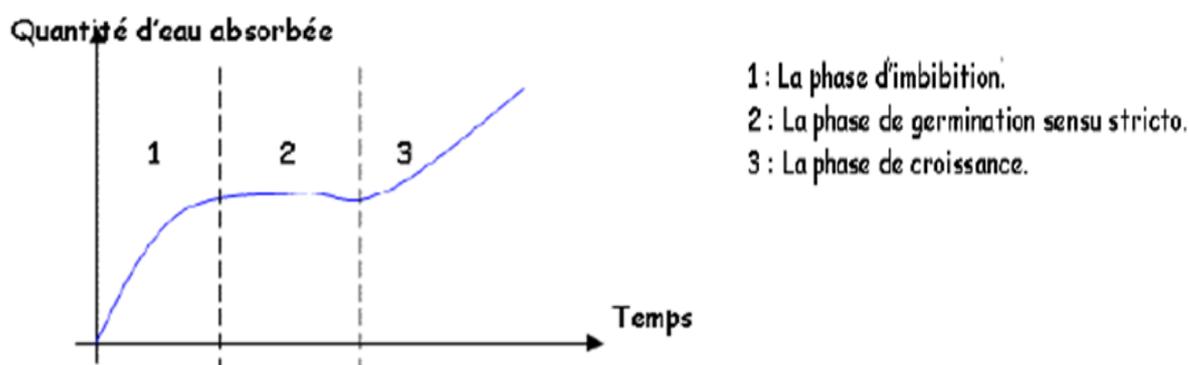


Figure. 04 : Courbe théorique de la germination. (Bensaadi, 2011)

2.4.1. Phase 1 :

Ou phase d'imbibition, correspond à une forte hydratation des tissus, accompagnée d'une élévation de l'intensité respiratoire (Heller et *al.* , 2004). Elle implique un mouvement d'eau dans le sens de potentiel hydrique décroissant (Hsopkin, 2003). La graine de blé absorbe 50% de son poids de départ. L'imbibition est rapide et réversible (Chaussat, 1999).

2.4.2. Phase 2 :

Encore appelée phase de germination sensu stricto, est caractérisé par une stabilisation de l'hydratation et de l'activité respiratoire à un niveau élevé (Hopkins, 2003). Durant cette phase, la graine peut être réversiblement hydratée et réhydratée sans dommage apparemment pour sa viabilité (Heller et *al.* , 2004).

Elle est caractérisée par une diminution de l'entrée d'eau, l'hydratation des tissus et des enzymes est totale. La consommation en oxygène est stable. Durant cette phase, il y a reprise de la respiration et des activités métaboliques. La présence d'eau et d'oxygène permet l'activation des processus respiratoires et mitotiques. L'eau rend mobiles et actives les phytohormones hydrosolubles en stock dans la graine. C'est le cas des gibbérellines qui sont véhiculées vers la couche à aleurones où elles vont activer la synthèse d'hydrolases (telles que les α -amylases, les nucléases ou les protéinases) nécessaires à la dégradation des réserves, à la division et l'élongation cellulaire.

- Les **α -amylases**, hydrolysent l'amidon stocké dans l'albumen et libèrent des molécules de glucose, substrat du métabolisme respiratoire.

- Les **nucléases**, permettent la libération d'acides nucléiques impliqués dans la formation des cytokines, hormones qui stimulent la division cellulaire.

- Les **protéinases**, lysent les réserves protéiques qui favorisent la formation de phytohormones telles que l'auxine responsable de l'élongation des cellules.

La phase de germination au sens strict se termine avec la percée du tégument par la racicule, rendue possible grâce à l'allongement des cellules.

2.4.3. Phase 3 :

Elle se caractérisée par une reprise de l'absorption d'eau et une élévation de la consommation d'oxygène puis très rapidement, on assiste à une reprise des divisions et grandissement cellulaire (Hopkins, 2003). À ce stade, la déshydratation des tissus cause la mort de la semence, la germination est terminée lorsque la racicule émerge les téguments de la graine.

Chez le blé dur ce phénomène se caractérise en première étape par l'imbibition de la semence, ensuite la réactivation des enzymes et la dégradation des réserves assimilables par l'embryon. La radicule se dégage des enveloppes séminales. Barroco et *al.*, (2005) ont proposé que l'élongation cellulaire soit nécessaire et soit généralement acceptée comme étant suffisante pour l'achèvement de protubérance de la radicule, la division cellulaire ne soit pas indispensable.

Trois mécanismes possibles ont été proposés dans le début de la croissance de la radicule:

- ✓ Le potentiel osmotique des cellules de la radicule devient plus négatif, ce qui conduirait à une absorption d'eau accrue et une extension de cellules,
- ✓ l'extensibilité des parois cellulaires des cellules de la radicule est augmentée, ce qui permet de leur allongement,
- ✓ les tissus de la graine autour de la pointe de la radicule s'affaiblissent, permettant ainsi à la pointe de s'allonger (Bewelley, 1997).

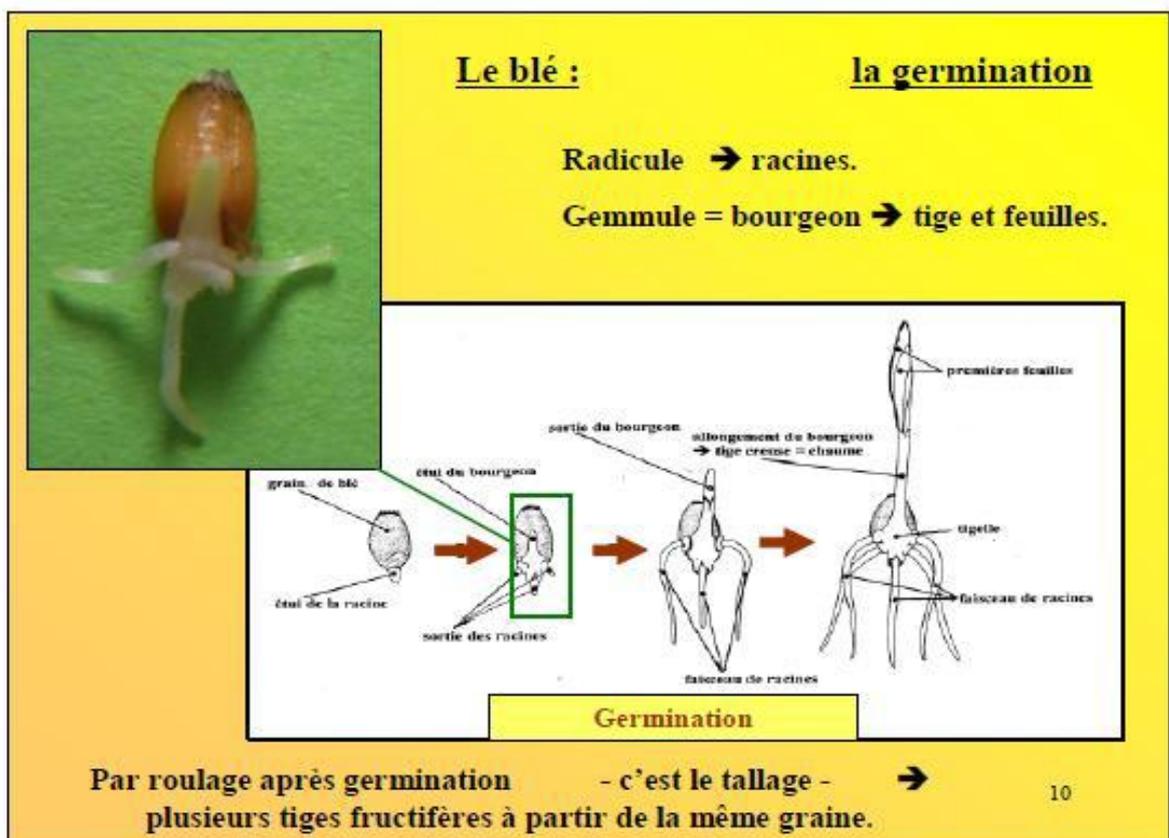


Figure. 05 : Germination de grain du blé (Clerget, 2011).

2.5. La biochimie de germination :

Lors de la germination, on assiste à la mobilisation des réserves accumulées dans les organes de stockage de la graine (cotylédons ou albumen) au cours de sa maturation. (Taiz et Zeiger, 2002). Ces réserves ont une grande importance car elles assurent l'alimentation du jeune embryon en cours de germination, ce qui lui permet d'atteindre l'autotrophie. Dans ce processus, sont impliquées des enzymes de dégradation des carbohydrates, des protéines et des lipides (Taiz et Zeiger, 2002).

2.5.1. Les réserves amyliques : L'amidon

Les mécanismes globaux qui règlent la germination sont l'hydrolyse de l'amidon et des protéines. En effet, les protéines sont transformées en acides aminés et l'amidon en sucres simples.

L'élément essentiel permettant le phénomène de germination est l'eau. Son action est fondamentale pour que les macromolécules (amidon, protéines) puissent s'hydrater et réaliser leur fonction. L'amidon constitue la forme principale des réserves glucidiques, notamment chez les Graminées dont il forme presque tout l'albumen. Il représente le composé glucidique le plus important de notre régime alimentaire (Bayuelo J et *al.*, 2002).

2.5.2. La dégradation de l'amidon :

La dégradation de l'amidon en glucose nécessite l'intervention de plusieurs hydrolases qui sont synthétisées en abondance dans la couche à aleurone et qui migrent vers l'albumen. L'amylase est une enzyme digestive qui brise les polysaccharides. Elle joue un rôle important dans la dégradation de l'amidon avec une grande spécificité.

L' α amylase : est une α -1,4 glucanase qui brise les liens α (1-4) glycosidiques à l'intérieur des chaînes de l'amylose et de l'amylopectine pour ultimement donner des molécules de maltose (disaccharides de α -glucose) (Wang et *al.*, 2008).

La β - amylase : est une α -1,4 glucane maltohydrolase, elle attaque les amyloses à chaînes linéaires à partir de l'extrémité non réductrice en libérant du maltose. L'amylopectine, par contre, n'est pas dégradée qu'au niveau des chaînes externes (Scriban, 1999).

La dextrine : son rôle est de cliver les liaisons α (1-6). Elle dégrade l'amidon en maltose (Hopkins, 2003).

L' α - glucosidase : l'étape finale de la dégradation de l'amidon est l'hydrolyse du maltose en deux molécules de glucose par l' α - glucosidase. Les oses obtenus sont alors directement utilisables par l'embryon (Levy, 1998).

2.5.3. Hétérogénéité de la germination :

Le pouvoir germinatif des graines dépend majoritairement des conditions dans lesquelles on les place. Les causes de la variabilité des propriétés germinatives sont multiples (Côme, 1970) et dépend surtout du patrimoine héréditaire. Selon Mazliak, (1982), cette hétérogénéité due essentiellement à trois catégories de facteurs. Les conditions de développement des semences sur la plante, les conditions de conservation des graines et les conditions de germination.

3. Le stress hydrique : effets et stratégies d'adaptation:

Le stress hydrique a été défini comme une baisse ou un excès de la disponibilité de l'eau, traduisant par une réduction de la croissance de la plante et/ou de sa reproduction par rapport au potentiel du génotype. La contrainte hydrique est le facteur ou l'ensemble de facteurs ayant pour conséquence le stress. D'autres auteurs limitent la définition du stress aux seules conditions correspondant à une hydratation suboptimale des tissus (Lamaze et *al.*, 1994). 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).

Le manque d'eau peut se manifester aussi bien dans le sol que dans l'atmosphère (Scoric, 1990). Généralement, la sécheresse du sol est lente (Larcher, 1995), mais la diminution de l'humidité de l'air peut parfois être rapide (Yokota et *al.*, 2006). D'un point de vue physique, le stress hydrique résulte d'un abaissement du potentiel hydrique dans l'air et/ou dans le sol en dessous d'une certaine valeur, dépendant du génotype, du phénotype et des caractéristiques du milieu (type de sol, température, vent) (Lamaze et *al.*, 1994).

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).

Les effets physiques, chimiques et physiologiques du stress hydrique dépendent du degré et du temps des conditions de sécheresse en relation avec le stade de développement de la plante (Hamon, 2007). D'autre part, la réponse de la plante à la sécheresse dépend de l'espèce, le génotype, la durée et la sévérité de la perte d'eau (Yokota et *al.*, 2006).

3.1. Effet du stress hydrique sur la germination :

En absence d'humidité suffisante, la graine même si elle est correctement placée dans le sol, elle n'évolue pas, retardant ainsi, la levée de la culture et en cas de persistance de sécheresse la situation peut se traduire par une absence de levée (Feliachi *et al.*, 2001). La sécheresse est l'un de principaux facteurs environnementaux qui affecte grandement la germination des espèces cultivées et réduit leur survie au cours des stades précoces de développement.

Au cours de cette phase, c'est le métabolisme des carbohydrates qui se trouve fortement affecté (Ingram *et al.*, 1996), à travers la perturbation du fonctionnement enzymatique impliqué dans ce processus. Il a été démontré que le glyceraldéhyde-3-déshydrogénase cytotologique est fortement induite par le déficit hydrique ce qui est l'origine d'un changement de l'acuité de la glycolyse (Velasco *et al.*, 1994).

De nombreux gènes contrôlant le métabolisme des sucres simples sont régulés en amont par les variations de l'hydratation cellulaire. Quoique l'hydrolyse de l'amidon et la libération des sucres réducteurs énergétiques constituent une étape incontournable dans le déroulement de la germination, mais indirectement la disponibilité des carbohydrates pendant cette phase assure un rôle de protection contre le déficit hydrique. Ils constituent les principaux osmolytes impliqués dans l'ajustement osmotique, assurent une protection des macromolécules essentiellement membranaires (Bray *et al.*, 1989).

4. Mécanisme de résistance à la sécheresse :

La résistance à la sécheresse est un terme générique qui comprend plusieurs processus. On en distingue classiquement quatre: L'échappement, la restauration, la tolérance à la déshydratation et l'évitement. Jones (1992) in (Kiani, 2007), a défini et établi une classification des 'stratégies' d'adaptation des plantes à la sécheresse : la première consiste à 'éviter' le stress hydrique et l'autre à le 'tolérer'.

Les mécanismes d'évitement réduisent l'impact d'un stress bien qu'il soit présent dans l'environnement. La première façon d'éviter la sécheresse est l'esquive. L'esquive permet à la plante de réduire ou d'annuler les effets de la contrainte hydrique par une bonne adaptation de son cycle de culture à la longueur de la saison des pluies. Le développement rapide avec une floraison précoce permet à la plante d'éviter les périodes sèches. Cette stratégie appliquée aux espèces cultivées a amené à décaler la date de semis et/ou à sélectionner des variétés plus précoces permettant d'éviter les déficits hydriques de fin de cycle. La deuxième façon d'éviter

la sécheresse est la capacité de la plante à maintenir un état hydrique satisfaisant. La stratégie de l'évitement est principalement liée, d'une part, à la réduction de la transpiration et d'autre part, à une optimisation de l'absorption d'eau par les racines.

Une réduction de la croissance foliaire est bénéfique aux plantes soumises à un stress hydrique, puisque la surface des feuilles est diminuée et la transpiration réduite. Habituellement, l'effet exercé par un potentiel hydrique faible est attribué à une perte de turgescence des cellules des zones en croissance (Nabors, 2008). Du fait que le grandissement cellulaire intervenait suite à une entrée d'eau qui après la relaxation du stress de la paroi cellulaire, provoquait la pleine turgescence des cellules, donc un apport réduit de l'eau se traduit par la réduction de la croissance (Hopkinsw, 2003). En plus, la réduction de la perte en eau par la fermeture stomatique est un moyen d'adaptation des plantes au stress hydrique.

L'efficacité de l'extraction de l'eau du sol par les racines figure parmi les types d'adaptation permettant à la plante d'éviter ou, plus exactement, de retarder la déshydratation de ses tissus (Turner et *al.*, 2001). L'augmentation de l'absorption peut être due à l'extension de l'absorption en profondeur et en surface, à la vitesse de croissance et de ramification des racines (Laurent et Sané, 2007).

La tolérance exige que l'organisme soit en équilibre thermodynamique avec le stress, ce qui signifie que les conditions qui règnent dans la plante sont en équilibre avec les conditions de l'environnement externe. La tolérance à la sécheresse implique que l'organisme survive à une dessiccation qui n'endommage pas son protoplasme et qu'il conserve la capacité de reprendre une croissance normale lorsque le protoplasme sera réhydraté. (Temagault., 2009).

La tolérance est la stratégie qui permet à la plante d'assurer ses fonctions physiologiques malgré une dégradation de son état hydrique. Le maintien de la turgescence lors d'un déficit hydrique permet de retarder la fermeture des stomates, de maintenir le volume chloroplastique et de réduire le flétrissement foliaire. Cette aptitude confère à la plante une meilleure tolérance au déficit hydrique interne. Cette tolérance au déficit hydrique interne permet un fonctionnement prolongé de la photosynthèse. Les produits carbonés peuvent alors être utilisés autant pour l'ajustement osmotique que la croissance racinaire.

La tolérance à la sécheresse est le résultat de mécanismes physiologiques, biochimiques et moléculaires complexes. L'expression de différents gènes et l'accumulation de divers osmolytes tels que la proline, les sucres solubles (l'ajustement osmotique) couplés à un système antioxydant efficace sont souvent les principaux mécanismes de tolérance au déficit

hydrique. Plusieurs de ces mécanismes ont été caractérisés chez différentes plantes (Kiani, 2007)

Les différents mécanismes adaptatifs combinés entre eux peuvent conférer aux plantes des comportements différents en situation de contraintes hydriques. L'adaptation se rapporte à des modifications de structure ou de fonction héréditaires, qui augmentent l'adéquation de l'organisme dans un environnement stressant. Les modifications morphologiques et physiologiques associées au métabolisme acide des crassulacées (CAM) sont des exemples d'adaptation (Hopkins, 2003).

L'acclimatation, par ailleurs se rapporte à des modifications physiologiques non héréditaires, qui interviennent au cours de la vie d'un individu. Ces modifications se produisent lors d'une exposition graduée au stress, elles permettent à l'individu de vivre et de se reproduire dans un environnement stressant. La capacité de s'acclimater est bien sûr un caractère génétique, mais les modifications produites en réponse au stress ne sont pas transmises à la génération suivante. Le processus d'acclimatation à un stress est appelé résistance et les plantes qui se sont acclimatées sont dites résistantes (Hopkins, 2003).

5. La synthèse des protéines liées à la tolérance au stress hydrique :

Les protéines de stress jouent un rôle dans l'adaptation de la plante et de ce fait de nombreux chercheurs abordent la résistance au stress par l'isolement et l'étude de ces molécules (Campalans et *al.*, 1999).

5.1. Les protéines de type LEA « Late-Embryogenesis-Abundant » :

Des études ont permis de classer les protéines identifiées en différentes catégories selon leur fonction. Le premier groupe de protéines intègre une grande famille de protéines qui sont les LEA. Ces polypeptides sont synthétisés à la fin de l'embryogenèse, ce qui confère leur nom, leur nature est hydrophile. Elles sont fortement exprimées dans les tissus des plantes en réponse à des facteurs de stress environnemental (Wong, 2009).

Les LEA, forment un groupe remarquable de protéines induites par le stress hydrique et qu'on trouve chez toutes les plantes (Campbell et Close, 1997), elles n'ont pas de fonctions enzymatiques, mais elles sont très efficaces dans la protection de membrane cellulaire et des protéines par des structures quaternaires (Close, 1996). Ramanjulu et Bartels, (2002) ont proposé que ces protéines puissent jouer un rôle en protégeant les structures cytoplasmiques pendant la déshydratation. Ces protéines sont synthétisées et accumulées pendant les périodes du stress hydrique et après stress osmotique dans tous les organes de la plante, elles ne contiennent ni de Cys (Cystéine) ni de Trp (Tryptophane) et de ce fait elles résistent à la

dénaturation thermique et à la dénaturation acide, elles pourraient agir comme un tampon pour limiter la sortie d'eau de la cellule (Tompa et *al.*, 2006). Elles ont un poids moléculaire moyen qui varie entre 15 et 200 KDa (Ramanjulu et Bartels, 2002).

Un autre mode d'action a été proposé pour les LEA. En effet, lorsque les plantes subissent un stress violent, les composés cellulaires ont tendance à se cristalliser, provoquant de nombreux dommages au sein de la cellule. Ce phénomène peut être contrecarré par les LEA, qui peuvent agir comme des solutés compatibles pour augmenter la viscosité du milieu intracellulaire et ainsi éviter sa cristallisation (Ramanjulu et Bartels, 2002).

5.2. Les aquaporines :

Les plantes équilibrent leur état hydrique en ajustant la conductibilité de l'eau de leurs tissus, les tissus vasculaires et les cellules de garde jouent un rôle important dans ce processus (Maurel et Chrispeels, 2001).

Les aquaporines sont des protéines qui sont incluses dans les membranes dont elles accroissent la perméabilité à l'eau. Elles peuvent réguler la conductivité hydraulique et augmenter de 10 à 20 fois la perméabilité à l'eau des membranes (Maurel et Chrispeels, 2001). L'expression et l'activité des aquaporines sont modulées par la déshydratation. Smart et *al.*, (2001) ont montré que la répression de gènes d'aquaporines diminue la perméabilité à l'eau des membranes et peut conduire à la conservation cellulaire de l'eau pendant des périodes de contrainte hydrique. En revanche, il y a des exemples de gènes d'aquaporines, qui sont exprimés pendant le stress hydrique ayant pour résultat une plus grande perméabilité et une augmentation du flux de l'eau (Yamada et *al.*, 1997).

Chapitre II : Matériel et méthodes

1. Matériel végétal :

L'étude a porté sur six géotypes de blé dur (*Triticum durum* Desf) d'origine locale et introduite. Les géotypes utilisés sont répertoriés selon le catalogue officiel de l'ITGC et fournies par la station expérimentale de l'ITGC El khroub (Tableau 01).

Tableau. 01 : Les géotypes étudiés et leurs origines.

Géotypes	Origine
Hedba 3	Algérie
Rahouia80	Algérie
Waha	ITGC Khroub Syrie/ICARDA
Cirta	ITGC Khroub
Ofanto	Italie
Simeto	Italie

2. Mise en place de l'essai :

L'expérimentation est réalisée au niveau du laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologies Végétales (GBBV), équipe 2 de Biotechnologie et Amélioration des Plantes à Chaabet El Rassas, Université des Frères Mentouri Constantine.

L'expérimentation est conduite dans la chambre de culture. Elle consiste à étudier l'effet du déficit hydrique au stade germinatif chez six géotypes de blé dur (*Triticum durum* Desf.) par l'ajout du polyéthylène glycol (PEG 6000) à différentes concentrations pendant une durée de 15 Jour.

L'expérimentation est maintenue à une température diurne de 25°C et une photopériode de 16h de lumière et 8h de nuit.

3. Le plan expérimental :

3.1. Préparation des solutions de PEG :

La solution de PEG à un potentiel osmotique donné, est préparée en faisant dissoudre la quantité de PEG 6000 « volume » dans l'eau distillée. Les solutions à préparer sont : 05% et 15%, en plus du 0% (eau distillée) comme témoin. Le PEG est un polymère non ionique hydrosoluble non perméable pour les cellules. Il est utilisé pour induire un déficit hydrique car

il réduit la disponibilité en eau sans causer de dommage physique aux plantes (Romo et *al.*, 2001).

3.2. Mise à germination et disposition de l'essai:

Les graines choisies doivent être saines, elles ont été sélectionnées selon leur taille et leur forme. Les tests de germination ont été effectués sous différentes concentrations de PEG 6000 (polyéthylène glycol). Pour chaque variété, les graines au nombre de 50, sont désinfectées à l'eau de javel à 5% pendant 20 min, puis rincées plusieurs fois avec de l'eau distillée. Elles sont ensuite mises à germer dans des boîtes, ces dernières sont tapissées par trois couches de papier filtre.

Dans un cas, nous avons imbibé les boîtes contenant des graines avec de l'eau distillée (témoin), dans les deux autres cas, nous avons imbibé les boîtes avec les graines de solution contenant 5 % et 15 % de PEG 6000. Les boîtes sont mises à l'obscurité dans une chambre de culture à une température de 25°C. La germination est repérée par la sortie de la radicule hors des téguments de la graine dont la longueur est d'au moins de 2 mm.

Après l'obtention de la radicule les boîtes sont mises à la lumière avec une photo période de 16h de lumière et 6h d'obscurité. (Figure.06).

Notre dispositif se répartit en six blocs, chaque bloc contient trois traitements et chaque traitement est répété trois fois. Le nombre de graines germées a été noté après 24 heures jusqu'à 7^{ème} jour.



Figure.06: Dispositif expérimental.

4. Les paramètres étudiés :

Le suivi du comportement des six génotypes du blé dur vis-à-vis du stress hydrique a été basé sur plusieurs paramètres physiologiques, morphologiques et biochimiques.

4.1. Paramètres physiologiques :

4.1.1. Taux de germination (G%) :

Ce paramètre constitue le meilleur moyen d'identification de la concentration des PEG qui présente la limite physiologique de germination des graines de blé dur. Il est exprimé par le rapport nombre de graines germées sur nombre total de graines.

Sur l'essai de germination ont été déterminé le pourcentage définitif de germination (G%) selon la formule suivante (Doran et Gunn, 1986) :

$$G(\%) = 100 (XT/N)$$

Où :

XT : le nombre total de graines germées ;

N : le nombre total des graines mises à germer.

4.1.2. Teneur moyenne en eau (TME %) :

La teneur moyenne en eau de la plante est une méthode très utilisée actuellement, afin d'estimer l'état hydrique de la plante en condition de stress hydrique.

Les teneurs moyennes en eau des plantules sont déterminées par le calcul de poids frais (PF) de chaque échantillon avant de mettre à sécher dans l'étuve à 80°C pendant 48 heures. Le poids sec est ensuite déterminé (PS). La teneur moyenne en eau est calculée par la formule suivante (Monneveu, 1991) :

$$TME (\%) = (PF - PS) / PF$$

4.2. Paramètres morphologiques :

4.2.1. Longueur de racine (cm) :

La longueur maximale des racines est la longueur de la racine la plus longue, la mesure de la longueur de racine a été réalisée avec un papier millimètre.

4.2.2. Longueur de partie aérienne (cm) :

La longueur de la partie aérienne a été mesurées à l'aide d'un papier millimètre, et ce pour évaluer la croissance de la plante vis-à-vis du stress.

4.2.3. Rapport poids frais de la plante/Poids frais de la plante (PFP/PSP).

Le rapport est déterminé par la formule suivante :

$$\mathbf{R (PFP/PSF) = PFP/PSP}$$

PFP : Poids frais de la plante (g), juste après le prélèvement.

PSP : Poids sec de la plante (g), après le passage à l'étuve à 80°C pendant 48 heures (Guiga, 2006).

4.3. Paramètre biochimique : L'analyse des protéines totales par SDS-PAGE

4.2.4. Principe de l'électrophorèse monodimensionnelle

Les protéines sont des molécules qui ont un rôle dans la structure et la fonction de la cellule, on peut les isoler, les analyser et les étudier. Un des outils d'analyse du protéome le plus souvent utilisé est l'électrophorèse qui est une technique biochimique de séparation fondée sur le fait que des molécules portant des charges électriques migrent à des vitesses différentes lorsqu'elles sont placées dans un champ électrique.

La séparation des protéines par SDS-PAGE permettant une séparation des molécules dans le gel selon leur poids moléculaire. La technique électrophorèse monodimensionnelle sur gel de polyacrylamide en présence de SDS est réalisée selon la méthode de Laemmli, (1970) citée par De Leonardis et *al.*, (2007).

Une variante de cette technique consiste à utiliser du SDS (Sodium Dodécyl 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. Il donne la charge négative aux protéines (aux chaînes de polypeptides) qui permet la migration des protéines vers l'anode (Dicko, 2006). Avant de procéder à la dénaturation des protéines avec du SDS, on utilise un agent réducteur, le β mercaptoéthanol qui réduit les ponts désulfuriques des protéines, les rendant ainsi sous forme monomérique. Le β -mercaptoéthanol coupe et casse les liaisons et les ponts désulfuriques (en peut le remplacer par le DDT). L'acétone fait descendre les protéines au bas et solubilise les molécules organiques comme les acides gras ;...etc.

Cette technique permet de déterminer le poids moléculaire des sous unités formant une protéine, et de se rendre compte du degré de purification atteint à chaque étape. Pour réaliser

cette technique on utilise deux gels ; un gel de séparation et un gel de concentration possédant des concentrations d'acrylamide bien spécifiques suivant les besoins de la séparation. Dans nos expériences, pour le gel de séparation, une concentration finale d'acrylamide du 15 % a été choisie et une concentration de 4% pour le gel de concentration. Ce dernier permet à l'échantillon une entrée homogène dans le gel de séparation (Annexe. 03) (Jangpromma et *al.*, 2007)

4.2.5. Extraction des protéines totales :

Selon De Leonardis et al.,(2007) l'extraction des protéines totales des feuilles et des racines de blé dur commence par le broyage de 100 mg des échantillons de chaque niveau de stress dans l'azote liquide à l'aide d'un mortier et un pilon puis ajouter 1 ml de la solution de précipitation (Annexe.01), homogénéiser et on laisse reposer une heure à - 20°C et centrifuger 15mn 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, laver le culot avec 1ml de solution de rinçage (Annexe.01), laisser reposer une heure à - 20°C puis éliminer le surnageant délicatement.

Dans un dessiccateur et pendant 30 minutes à 60°C on fait sécher les tubes puis réduire le culot 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 (Annexe.01), vortexé et pour finir passer à une centrifugation 10 minutes à 20°C et stocker à -20°C. Le produit est enfin prêt à être déposé après sa décongélation.

4.2.6. Dépôts des échantillons et migration dans le gel :

25 µl de chaque échantillon est déposé dans un puits à l'aide d'une microseringue tout en respectant l'endroit du dépôt de marqueur de taille. Après chaque dépôt la seringue doit être rincée avec le tampon de migration. La cuve d'électrophorèse est remplie avec un volume suffisant de tampon de migration (Annexe.02). Ensuite, le bac supérieur situé entre les deux plaques (bien serré contre les joints pour éviter les fuites) est rempli lui aussi avec le même tampon jusqu'à ce que les faces supérieures des gels soient immergées. Ce dernier est placé dans la cuve d'électrophorèse pour que les faces inférieures des gels plongent dans le tampon. Enfin, la cuve est fermée et est reliée à un générateur qui va assurer le passage du courant électrique. La migration est menée à une intensité constante de 30mA/gel.

Une fois la migration terminée, il faut attendre jusqu'à ce que le front de BBP atteigne le bord inférieur des plaques (Approximativement 45 min).

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.07 : La migration des protéines totales sur gel d'acrylamide 15%.

4.2.7. Fixation et coloration :

Après la sortie du front de migration (coloré en bleu), la migration est arrêtée. Les gels sont démoulés et récupérés dans des bacs en plastique puis recouverts avec une solution de coloration est constituée d'un fixateur des protéines, le TCA (acide trichloracétique) à 60% et d'un colorant, le bleu de Coomassie R250 (Annexe 02). Les gels doivent être maintenus en agitation pendant 45min pour éviter le dépôt du colorant. Après ils sont décolorés dans de Solution de décoloration.

5. 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* ».

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

Chapitre III : Résultats et discussion

1. Analyse des paramètres physiologiques :

1.2. Analyse du taux de germination finale :

Bien qu'il ne reflète pas intégralement le comportement des plantes dans leurs conditions naturelles, le taux de germination, en conditions de stress hydrique, donne toujours une idée plus ou moins précise du comportement des variétés étudiées (Ben Naceur et *al.*, 2001). La figure (08) montre que, quelle que soit la variété, la capacité germinative des graines stressées est réduite comparativement au témoin et ceci pour les deux concentrations utilisées.

Au niveau des témoins (T), les six génotypes marquent les meilleures valeurs de taux de germination qui varient de (100 ± 0) % chez les deux génotypes Hedba3 et Ofonto et une valeur minimale de (83.33 ± 5.275) enregistrée chez le génotype Simeto (Figure. 08). Les deux génotypes RAH et Cirta marquent les mêmes valeurs de %G (96.76 ± 5.774) %.

Sous l'effet du déficit hydrique, pour le premier niveau de stress, qui correspond à une concentration de 5%, la valeur minimale est observée dans le génotype Simeto de (53.33 ± 5.774) %, alors que la valeur maximale est enregistrée chez les trois génotypes Rahouia80, Hadba3 et Cirta (96.67 ± 5.774) % (Figure. 08).

En ce qui concerne le deuxième niveau du stress 15%, on remarque une diminution considérable de %G de l'ordre (53.33 ± 5.774) % de chez la variété Simeto comme valeur minimale et de (93.33 ± 5.774) % pour les deux variétés Rahouia 80 et Hedba3 comme valeur maximale.

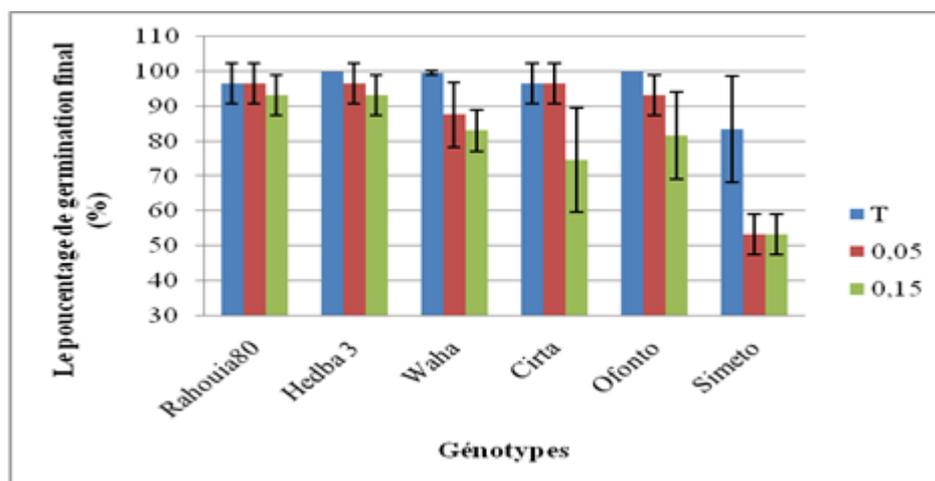


Figure. 08: Variation du taux de germination final chez six génotypes de blé dur en fonction de l'intensité du stress hydrique.

L'analyse de variance, montre l'existence d'une différence très hautement significative pour le facteur génotype, traitement et hautement significative interaction (variété × niveau) (Tableau.02).

Tableau .02 : Analyse de variance du taux de germination obtenue à partir des différents types de stress appliqués aux six variétés de blé dur

Source	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	Pr > F
Génotypes	5	7277,556	1455,511	< 0,0001
Traitement	2	1217,444	608,722	0,000
Génotypes*traitement	10	2162,333	216,233	0,002

Le test **NEWMAN-KEULS** au seuil 5%, classe le facteur variété en quatre groupes homogènes. Le premier groupe (A) porte le génotype Hedba3 avec une moyenne générale maximale de 96.67%, alors que le deuxième groupe (AB) porte les génotypes Rahouia 80, Waha et Ofanto avec des moyennes générales respectivement de 95.56, 94.67 et 91.67%. Le troisième groupe (B) porte le génotype Cirta avec de moyenne générale de 84.78%. Le dernier groupe C porte le génotype Simeto avec de moyenne générale de 63.33%.

Le test de **NEWMAN-KEULS** au seuil 5% pour le facteur traitement indique 3 groupes homogènes. Le premier groupe A correspond au témoin avec une moyenne générale de 93.778%. Le deuxième groupe B correspond au traitement de stress qui ont 5% avec des moyennes générales de 87.389%. Le dernier groupe C correspond au traitement de stress qui ont 15% avec des moyennes générales de 82.167%.

Pour le taux de germination plusieurs auteurs comme (Johanna et *al.*, 2006) ont utilisé ce paramètre comme critère de la sélection pour la résistance au stress abiotique tels que le stress salin puisque la variété tolérante donne un taux raisonnable de germination dans les concentrations élevées. À l'étape finale de germination, l'inaptitude des graines à germer semblent signifier qu'avec l'augmentation de la concentration en sel, l'effet de toxicité domine, suite à l'accumulation du Na⁺.

Selon (Prado *et al.*, 2000) la diminution du taux de germination des graines soumises à un stress salin serait due à un processus de dormance osmotique développé sous ces conditions de stress, représentant ainsi une stratégie d'adaptation à l'égard des contraintes environnementales.

1.2. Analyse de teneur moyenne en eau :

La teneur moyenne en eau (TME) correspond à une signification physiologique directe de l'état hydrique du végétal. Ce paramètre est souvent affecté par une contrainte hydrique.

D'après l'histogramme ci-dessous (**Figure.09**), on remarque une diminution graduelle de la TME des plantes sous l'effet d'un stress hydrique imposé par une utilisation du PEG- 6000.

Au niveau des témoins (T), les six variétés étudiées marquent les meilleures valeurs de TME qui varient de 91,88% chez la variété Rahouia 80 et 90,5% pour la variété Hedba 3. Les autres variétés elles sont proche ente elles.

Au traitement 5% du PEG 6000, la teneur moyenne en eau fluctue entre 84,8 % et 81,6 % chez les deux variétés Ofanto et Rahouia 80 respectivement. Les quatre autres variétés marquent des valeurs proches entre elles.

Au stress sévère à 15% du PEG 6000, une nette diminution de la teneur moyenne en eau est observée chez toutes les variétés. La valeur maximale est signalée par Hedba 3 68,7%, alors que la valeur minimale est marquée par Ofanto 35,15 %.

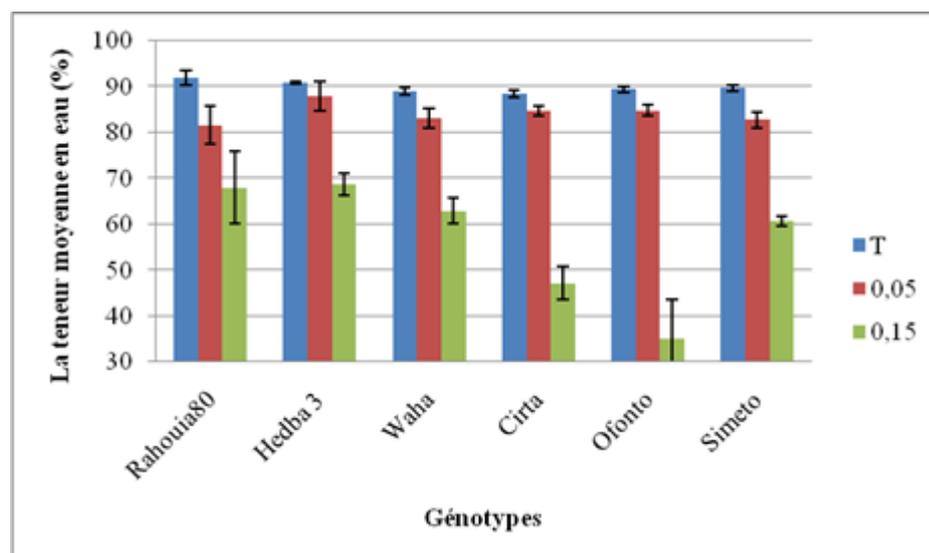


Figure. 09: Variation de teneur moyenne en eau chez six génotypes de blé dur en fonction de l'intensité du stress hydrique.

La comparaison des moyennes de la teneur moyenne en eau et l'analyse de variance, montrent qu'il existe une différence très hautement significative entre les niveaux de stress, entre les génotypes et interaction (variété × niveau)

Tableau .03 : Analyse de variance de teneur moyenne en eau obtenue à partir des différents types de stress appliqués aux six variétés de blé dur

Source	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Génotypes	5	986,164	197,233	17,481	< 0,0001
Traitement	2	11056,611	5528,306	489,991	< 0,0001
Génotypes*traitement	10	1751,524	175,152	15,524	< 0,0001

Le test **NEWMAN-KEULS** au seuil 5% classe le facteur niveau de stress en trois groupes. Les deux premiers groupes A (témoin) et B (S1 :5%) présentent les teneurs en eau les plus élevées 89,91 et 84,18 % respectivement, par contre le dernier groupe C présente la teneur en eau la plus faible (S2 :15%) 57,10%.

Le test **NEWMAN-KEULS** au seuil 5% classe le facteur variété en quatre groupes A, AB et B. Le premier groupe A représente la variété Hedba 3 et le groupe AB représente la variété Rahouia 80 avec des moyennes de 82,45% et 80,5% respectivement. Le groupe B englobe les deux génotypes Waha et Simeto. Alors le dernier groupe D signale la variété Ofanto avec une moyenne générale de 69,82%.

Le manque d'eau est un élément déterminant pour la croissance des plantes, particulièrement en région arides et semi arides. Il induit chez les plantes stressées une diminution du contenu moyenne en eau, et une réduction significative de la production de biomasse totale (Albouchi et *al.*, 2000). L'analyse du teneur moyenne en eau permet de décrire d'une manière globale, le statut hydrique en réponse au stress hydrique, et d'évaluer l'aptitude à réaliser une bonne osmorégulation, et maintenir une turgescence cellulaire (EL Jaafari et *al.*, 2000).

De nombreux travaux ont été réalisés sur les conséquences de la sécheresse sur la teneur moyenne en eau des feuilles de différentes espèces cultivées, leurs conclusions convergent souvent vers la conclusion suivante : la TME est affectée par une contrainte hydrique. Keyvan, (2010) montre que l'augmentation de l'intensité du stress hydrique sur des variétés de blé cultivé provoque la diminution de la TME. Ces mêmes résultats ont été démontrés chez le haricot par Korir *et al.*, (2006).

2. Analyse des paramètres morphologiques :

2.1. Analyse de longueur de partie aérienne:

La longueur de la partie aérienne les plus élevées sont notées chez les témoins, avec une valeur maximale de (21.967 ± 1.102) cm enregistrée chez le deux génotype Hedba3 et une valeur minimale de (13.600 ± 1.833) cm et (13.100 ± 0.872) cm enregistrée chez les génotypes Rahouia 80 et Ofanto respectivement (Figure.1 0).

Sous l'effet du déficit hydrique, pour le premier niveau de stress, qui correspond à une concentration de 5% de PEG 6000, la valeur minimale est observée dans les génotypes Ofanto et Rahouia 80 de (9.567 ± 1.185) cm et (9.733 ± 1.650) cm, alors que la valeur maximale est enregistrée chez le génotype Waha de (18.467 ± 0.681) cm (Figure.10).

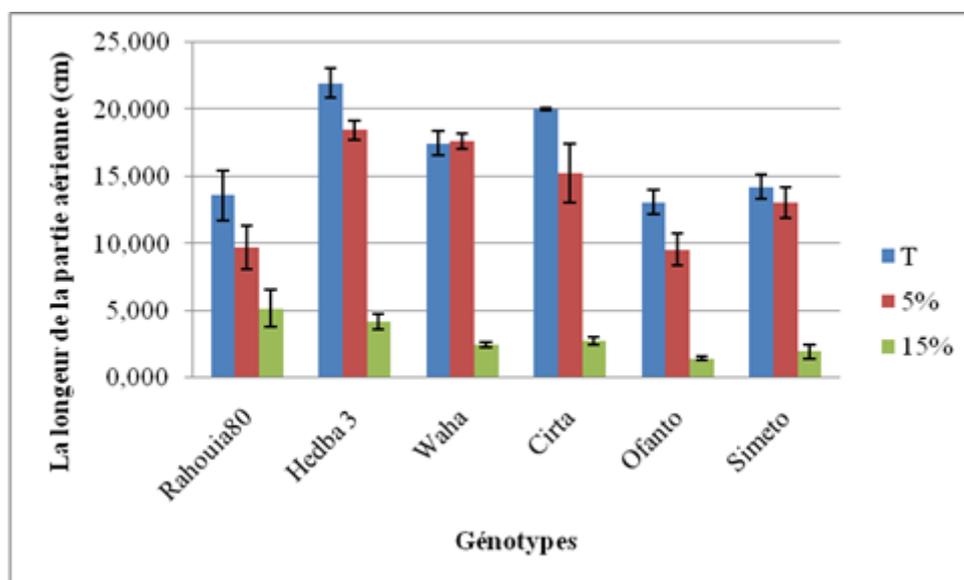


Figure .10 : Variation de longueur de la partie aérienne chez six génotypes de blé dur en fonction de l'intensité du stress hydrique.

En ce qui concerne le deuxième niveau du stress 15% de PEG 6000, on note une baisse plus importante de la Longueur aérienne chez les six génotypes étudiés, avec une

moyenne minimale égale à (1.433 ± 0.153) cm chez le génotype Ofanto et une longueur aérienne maximale égale à (5.200 ± 1.411) cm chez le génotype Rahouia 80 (Fig .10). Les deux génotypes Cirta et Waha marquent des valeurs entre elles et (2.767 ± 0.321) cm et (2.500 ± 0.200) cm respectivement.

L'analyse de variance de la longueur de la partie aérienne fait ressortir des différences très hautement significatives pour l'effet traitement, variété et leur interaction.

Tableau .04 : Analyse de variance de longueur de partie aérienne obtenue à partir des différents types de stress appliqués aux six variétés de blé dur

Source	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Génotypes	5	291,831	58,366	50,582	< 0,0001
Traitement	2	1896,968	948,484	821,989	< 0,0001
Génotypes*traitement	10	163,161	16,316	14,140	< 0,0001

Le test **NEWMAN-KEULS** au seuil 5% classe le facteur variété en quatre groupes homogènes. Le premier A porte le génotype Hedba3 avec une moyenne générale de 14.867cm. Le deuxième porte le génotype Cirta et Waha avec une moyenne générale maximale de 12.678 cm, 12.556 cm, alors que le troisième groupe C porte les génotypes Simeto et Rahouia avec des moyennes générales respectivement de 9.756 cm et 9.511 cm. Le dernier groupe D porte le génotype Ofanto avec une moyenne générale de 8.033cm.

Le test de **NEWMAN-KEULS** au seuil 5% pour le facteur traitement indique 3 groupes homogènes (Tab.0). Le premier groupe A correspond au témoin avec une moyenne générale de 16.733 cm. Le deuxième groupe B correspond au traitement de stress qui ont 5% avec des moyennes générales de 13.691 cm. Le dernier groupe C correspond au traitement de stress qui ont 15% avec des moyennes générales de 3.006 cm.

2.2. Analyse de longueur des racines:

Une nette diminution de la longueur des racines est observée chez tous les génotypes. Chez les témoins (Figure.11), avec une valeur maximale de (24.000 ± 0.100) cm enregistrée chez le génotype Simeto et une valeur minimale de (16.333 ± 3.617) cm enregistrée chez le

génotype Rahouia. Les deux génotypes Hedba3 et Waha marquent des valeurs de longueur racinaire proche entre elles (17.667 ± 01.607) cm et (17.567 ± 0.981) cm respectivement.

Sous l'effet du PEG-6000 à une concentration de 5% (Figure. 11), la longueur des racines fluctuent entre une valeur maximale de (22.000 ± 4.359) cm enregistrée chez le génotype Simeto et une valeur minimale de (9.967 ± 1.950) cm enregistrée chez le génotype Rahouia (Figure.11).

Au deuxième niveau de stress 15% de PEG. Une nette diminution de la longueur racinaire est observée chez tous les génotypes (Figure.11). La longueur racinaire varie entre (10.500 ± 3.041) cm chez le génotype Hadba 3 et (0.867 ± 0.153) cm chez le génotype Simeto.

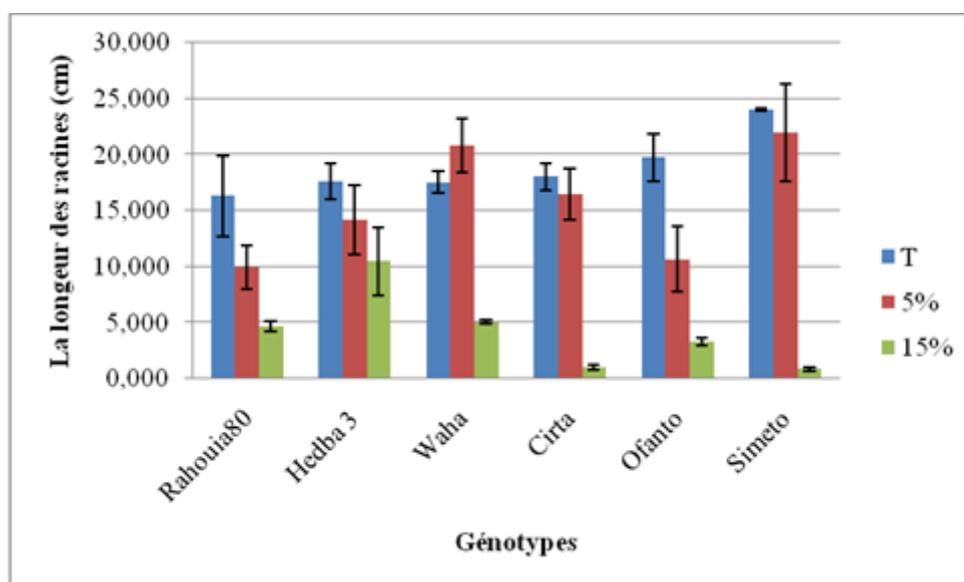


Figure. 11 : Variation de longueur des racines chez six génotypes de blé dur en fonction de l'intensité du stress hydrique.

L'analyse de variance de longueur racinaire fait ressortir des différences très hautement significatives pour l'effet traitement, variété et leur interaction.

Tableau .05 : Analyse de variance de longueur des racines obtenue à partir des différents types de stress appliqués aux six variétés de blé dur

Source	Ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Génotypes	5	196,765	39,353	8,415	< 0,0001
Traitement	2	2139,271	1069,636	228,727	< 0,0001
Génotypes*traitement	10	484,904	48,490	10,369	< 0,0001

Le test **NEWMAN-KEULS** au seuil 5% classe le facteur variété en deux groupes homogènes. Le premier (A) porte le génotypes Simeto, Waha et Hedba 3 avec une moyenne générale maximale de 15.622 cm, 14.489cm et 14.133cm, alors que le second groupe (B) porte les génotypes Cirta, Ofanto et Rahouia 80 avec des moyennes générales respectivement de 11.856 cm, 11.244cm et 10.333cm.

Le test de **NEWMAN-KEULS** au seuil 5% pour le facteur traitement indique 3 groupes homogènes. Le premier groupe A correspond au témoin avec une moyenne générale de 18.900 cm. Le deuxième groupe B correspond au traitement de stress qui ont 5% avec des moyennes générales de 15.700 cm. Le dernier groupe C correspond au traitement de stress qui ont 15% avec des moyennes générales de 4.239 cm.

2.3. Analyse de rapport PFP/PSP:

Les rapports (PF/PS) les plus élevées sont notées chez les témoins, avec les valeurs maximales de (11.923 ± 1.537) enregistrée chez les deux génotypes Rahouia et Hedba 3 et une valeur minimale de (8.701 ± 0.646) enregistrée chez le génotype Cirta (Figure. 12).

Au premier niveau de stress 5% de PEG 6000, les valeurs minimales sont observées dans les génotypes Rahouia et Simeto (5.629 ± 1.255) et (55.848 ± 0.595) , alors que la valeur maximale est enregistrée chez le génotype Hedba3 de (8.175 ± 1.604) % (Figure. 12). Les autres variétés marquent des Rapport (PF/PS) qui fluctuent respectivement entre (6.010 ± 0.822) et (6.530 ± 0.439) % et (6.626 ± 0.522) .

Pour le deuxième niveau de stress hydrique 15% de PEG 6000, on note une baisse plus importante de la (PF/PS) chez les six génotypes étudiés, avec une (PF/PS) maximale égale à (4.070 ± 1.504) chez le génotype Hedba3 et une (PF/PS) minimale égale à (1.900 ± 0.130) et (1.560 ± 0.204) chez les génotypes Cirta et Ofanto respectivement (Figure.12).

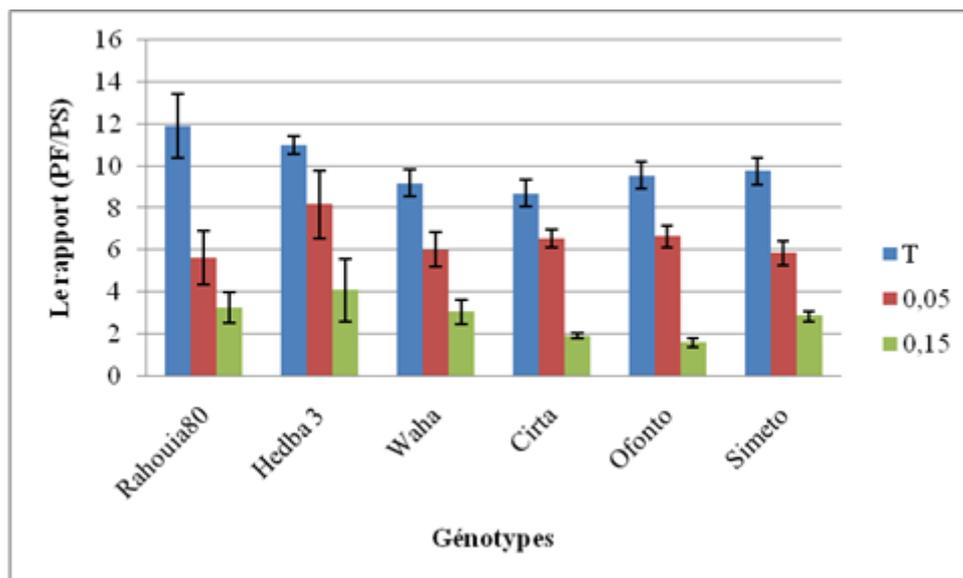


Figure. 12 : Variation du rapport PFP/PSP chez six génotypes de blé dur en fonction de l'intensité du stress hydrique.

L'analyse de la variance au facteur stress hydrique, donne une différence très hautement significative entre le génotype et le traitement mais chez le facteur interaction (variété × niveau) donne un résultat significatif.

Tableau .06 : Analyse de variance de rapport PFP/PSP obtenue à partir des différents types de stress appliqués aux six variétés de blé dur

Source	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Génotypes	5	26,901	5,380	7,423	< 0,0001
Traitement	2	472,060	236,030	325,651	< 0,0001
Génotypes*traitement	10	20,490	2,049	2,827	0,011

Le test de **NEWMAN-KEULS** au seuil 5% pour le facteur génotype donne quatre groupes homogènes. Le premier A contient la valeur la plus élevée du rapport (PF/PS) qui enregistre chez le génotype Hedba3 (7.74). Le deuxième groupe B contient la valeur (6.93) enregistre chez le génotype Rahouia 80. Le troisième groupe BC porte respectivement les trois génotypes Simeto (6.15), Waha (6.07) et Ofanto (5.90). Le dernier groupe C contient la valeur la plus basse du (PF/PS) qui enregistre chez le génotype Cirta.

L'analyse du test de **NEWMAN-KEULS** au seuil 5% classe le facteur stress en trois groupes homogènes. Le premier groupe A indiqué le témoin avec de moyenne générale de 10.01. Le deuxième groupe B correspond au traitement de stress 5% de PEG 6000 avec de moyenne générale de 6.47. Le troisième groupe C correspond au traitement de stress 15% de PEG 6000 avec de moyenne générale de 2.77.

L'assimilation de l'eau difficile (Bohnert et Sheveleva. 1998) Le stress hydrique peut être induite par ajout de divers produit au milieu nutritif. Parmi ces produits le Polyéthylène glycol (PEG). Il a pour effet la réduction du potentiel hydrique du milieu

Les plantes répondent au déficit hydrique par des modifications morphologiques, physiologiques et métaboliques (Ouvrard et *al.*, 1996).

Selon Thakur et Rai, 1982, le déficit hydrique entraîne un retard dans la croissance végétale. Il se traduit par une réduction de la hauteur et du diamètre de la tige, un raccourcissement des entre-nœuds et une diminution du nombre de feuilles et de la surface foliaire.

Selon Leps. (2000), les déficits hydriques longs se traduisent par des changements progressifs dans la structure de la plante qui visent à réduire sa surface transpirante, mais qui induisent également une baisse de sa production. Au début du cycle végétatif, la plante ajuste sa taille à l'eau disponible dans le milieu. Ainsi ses besoins en eau sont plus faibles et sa biomasse réduite. Le résultat de la croissance indique que la salinité a affecté négativement la croissance de l'appareil végétatif du blé comparativement à celle des racines. Cette diminution de la croissance est le résultat au niveau cellulaire d'une baisse du nombre de divisions cellulaires lors des stress abiotiques (stress salin et hydrique).

La réduction de la croissance aérienne observée au niveau des plantules peut aussi s'expliquer par des augmentations des taux de certains régulateurs de croissance, notamment l'acide abscissique et les cytokinines induites par le sel. (Benmahioul et *al.*, 2009. Kuiper et *al.*, 1990) On remarque aussi que la salinité a réduit davantage la croissance des parties aériennes comparativement à celle des racines, ceci s'accordant bien avec les résultats. Selon Zhu (2001) la réduction de croissance des parties aériennes est une capacité adaptative nécessaire à la survie des plantes exposées à un stress abiotique.

Sous conditions de stress, l'assimilation de l'eau par la plante est directement liée au degré de développement du système racinaire (Richard et Passioura, 1981). Toutefois, les caractéristiques du système racinaire varient en fonction des conditions édaphiques et

climatiques. La relation entre le degré de développement du système racinaire et la tolérance de la sécheresse a été prouvée chez plusieurs espèces. Matsuura et *al.* (1996) rapportent que sous stress hydrique la longueur totale de la racine diminue chez le maïs et augmente chez le millet et le sorgho. Ils estiment ainsi qu'il existe une relation positive entre la longueur de la racine et la tolérance à la sécheresse. Matsuura et *al.* (1996) suggèrent qu'un système racinaire long et extensif peut conférer un avantage en augmentant l'apport en eau de la partie aérienne. Vannozzi et Paolini (1982), considèrent que les génotypes ayant un système racinaire bien développé résistent mieux à la sécheresse. Ils recommandent ainsi la longueur de la racine ainsi que la masse par unité de volume du sol comme paramètres utiles dans la sélection des plantes pour la sécheresse.

3. L'analyse des protéines totales :

L'analyse des protéines totales des feuilles de six génotypes de blé dur par la technique d'électrophorèse (SDS-PAGE) après subi un stress avec une concentration de 5% et 15 % du PEG 6000 a révéler une différence significative dans le nombre de bandes en termes de présence et d'absence de bandes mais aussi en fonction de leur poids moléculaire et leurs intensité (Figure 13-14).

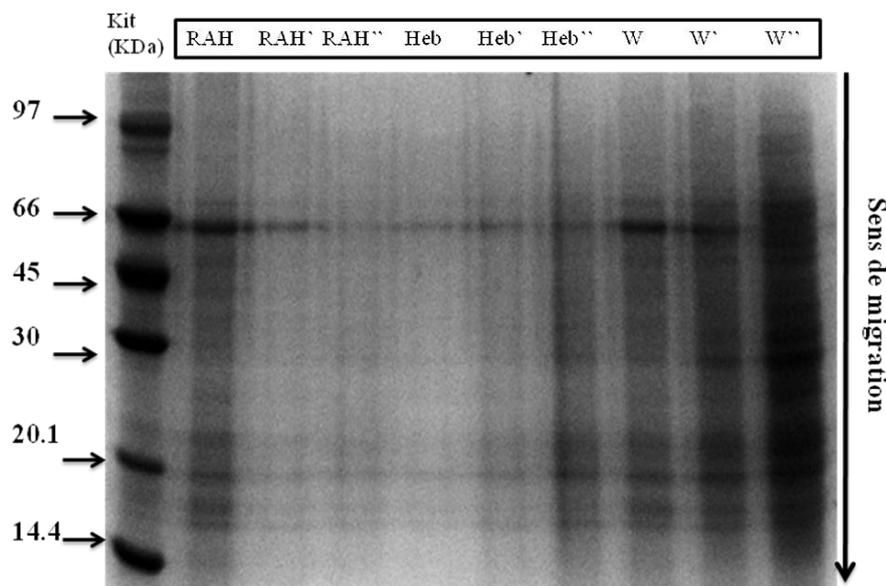


Figure.13 : Profil électrophorétique SDS-PAGE des protéines totales des trois génotypes du blé dur soumis à un stress hydrique.

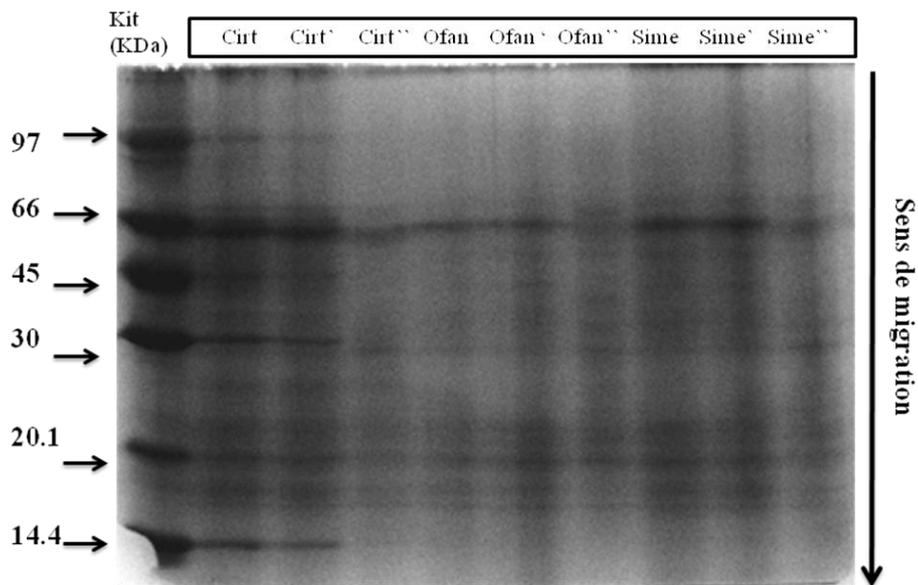


Figure.14 : Profil électrophorétique SDS-PAGE des protéines totales des trois génotypes du blé dur soumis à un stress hydrique.

Le nombre total des bandes polypeptidiques est de 49 bandes répertoriées (avec des PM différents), leurs poids moléculaire varient de 14.400 à 104.440 KDa. 31 bandes ont été observée aussi bien chez les témoins que chez les stressés, 4 bandes n'ont été observées que chez les témoins et 31 bandes sont apparues chez les stressés.

On remarque que le nombre des bandes chez les stressés est plus élevés par rapport aux témoins.

L'évaluation de nombre des bandes par SDS-PAGE indique qu'après un stress hydrique 9 bandes protéiques sont apparues chez le blé dur. Dans certains génotypes quelques nouvelles bandes apparaissent et d'autre disparaissent (Farshadfar *et al.*, 2008). L'augmentation de l'intensité des bandes est le résultat de l'augmentation des protéines (Jasso *et al.*, 2002).

Des changements dans le profile protéique (l'inhibition de certaines protéines, la surexpression de certaines d'autre et l'apparition de nouvelles protéines) interviennent suite à beaucoup de stress environnementaux parmi lesquels le manque d'eau. Ils ont une grande importance dans l'adaptation des plantes au stress. (Yordanova *et al.*, 2004) . 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).

La synthèse des 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 notamment les déhydrines qui assurent une protection de l'ensemble vital des protéines

cellulaire (David et Grongnet, 2001), ces protéines s'accumulent en cas de stress et en association avec la tolérance à la sécheresse dans de nombreuses plantules, surtout pour le cas des cultures annuelles tels que les céréales (Longxing et *al.*, 2010).

Conclusion et Perspectives

Conclusion et Perspectives

Le déficit hydrique est le principal facteur environnemental, responsable des faibles rendements et leurs irrégularités chez le blé dur. Cependant, l'impact de ce stress abiotique sur la productivité de cette espèce, est tributaire de son intensité et le temps de sa persévérance.

La phase germination est considérée comme l'une des phases critiques sur laquelle repose le départ végétal. 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 six variétés de blé dur (locales et introduites), semés aux différents niveaux de stress hydrique par l'ajout de PEG 6000(5% et 15%) appliqués au stade germinatif.

Les résultats obtenus, démontrons que l'adaptation de nos variétés est étroitement dépendante et favorisée par les différentes réponses physiologiques, morphologiques et biochimiques dans les conditions de stress, par analyse comparative de quelques paramètres physiologiques, morphologiques et biochimiques. On a pu observer une diminution du taux de germination final, de la teneur moyenne en eau, de la longueur de la partie aérienne, racinaire et une diminution dans le rapport PFP/PSP, cette diminution est plus importante chez les plantes fortement stressées.

Par ailleurs la SDS-PAGE a révélé l'absence ou la présence de certaines protéines spécifiques à chaque variété, chaque stress et même à chaque niveau de stress. 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.

L'analyse des gels obtenus a permis la détection de visualiser protéines dont l'expression était modifiée par le stress. Au total de 54 bandes différentes d'un poids

moléculaire allant de 14.521 à 104.673 KDa ont été observées. Certaines d'entre elles sont observées aussi bien chez les témoins que chez les stressés, d'autres sont réprimées alors que le reste ont été induites. Ces protéines jouent un rôle primordial dans la tolérance, la protection et la stabilisation de membrane ainsi les composants cytoplasmiques lors d'un déficit hydrique, ce qui permet à la plante de développer des mécanismes pour s'adapter aux conditions de l'environnement auxquelles elle est confrontée et par conséquent arrive à maintenir un fonctionnement satisfaisants et une stabilité des rendements.

En conclusion, le blé dur manifeste effectivement des traits d'adaptation morphophysiologiques et biochimiques en condition de contrainte hydrique. Ce sont des marqueurs de stress des indicateurs d'adaptation a ce type de stress hydrique. Ces indicateurs d'adaptation peuvent être utilisés comme paramètres de sélection et d'amélioration du rendement de blé dur dans les régions méditerranéennes.

Dans le cadre d'un travail futur, il serait souhaitable :

- -D'établir une stratégie de sélection des variétés reproductives et résistantes aux multiples conditions climatiques, tout en continuant d'étudier les caractères phénologiques et morpho physiologiques qui restent importants dans la caractérisation variétale du blé.
- -La compréhension approfondie des mécanismes physiologiques et génétiques impliquées dans la résistance.
- -D'utiliser des marqueurs moléculaires spécifiques qui pourraient être liés à l'adaptation.
- -Introduire les gènes impliqués dans la résistance et accélérer le processus de création variétale.

Références Bibliographiques

Références bibliographique :

- **Abed et Belabdelouhad. 1998.** Valeur technologique de quelques variétés de blé. Bull. Industries des céréales N°20-26-32.
- **Ait Slimane Ait Kaki S. 2008.** Contribution à l'étude de l'interaction génotype x milieu, pour la qualité technologiques chez le blé dur en Algérie. Mémoire de magistère. Université Badji Mokhtar Annaba.
- **Amounen S et Benhebireche N. 2013.** Contribution à l'étude de la tolérance au déficit hydrique du blé dur (*Triticum durum* Desf). Mémoire de master Academie. Université Ouargla.
- **Anonyme A, 2014.** planetoscope-Statistique : Production mondiale de blé 2014. www.planetoscope.com/.../191-production-mondiale.
- **Anonyme B. 2014.** Les récoltes de blé dans le monde par grandes zones et principaux pays producteurs (blé tendre et blé dur). www.agpb.com/.../160-monde-donnes-globales.et-par-pays-sur-le-marché dans Monde-Données.
- **Anonyme C, 2013.** Note de conjoncture. www.Oaic-offre.com.
- **Anonyme D. 2013.** Céréales : hausse de 5% de la facture des importations les dix premiers mois de 2013. www.mincommerce.gov.dz/fiches13/stat021213fr.
- **Anonyme E. 2014.** Algérie : hausse de 17,6% de la facture des importations de blé durant le 1^{er} trimestre 2014. www.djazairess.com/fr/lqo/5197550.
- **Atienza S, Faccioli P, Perrota G et al. 2004.** Large scale analysis.
- **Aya A et al. 2011.** Bases génétiques et biochimiques de la capacité germinative des graines: implications pour les systèmes semenciers et la production alimentaire
- **Bajji M. 1999.** Étude des mécanismes de résistance au stress hydrique chez le blé dur : caractérisation de cultivars différant par leurs niveaux de résistance à la sécheresse et de variantes somaclonales sélectionnés In vitro. Thèse de doctorat. Université Louva
- **Barroco. 2005.** The role of the cell cycle machinery in resumption of postembryonic development. *Plant Physiology*, 137:127-140p.
- **Bayuelo J et al. 2002.** Salinity tolerance of *Phaseolus* species during germination and early seedling growth. *CropSci.* 42, 1584-1594.
- **Beddiare S et Ben Kachrouda R. 2013.** Etude des caractères d'adaptation morpho-physiologique et biochimique des plantules du blé dur à la salinité. Mémoire de Master Académique. Université Ouargla.

- **Benaouida K. 2008.** Etude de l'alpha amylase de levures isolées d'un écosystème extrême (Sol environnant des sources thermales) et cultivées sur un milieu à base de lactosérum. Mémoire de magistère. Université Mentouri Constantine.
- **Bensaadi N. 2011.** Effet du stress salin sur l'activité des α -amylases et la remobilisation des réserves des graines d'haricot (*Phaseolus vulgaris* L.) en germination. Mémoire de magistère. Université d'Oran.
- **Beweley. 1997.** Seed germination and dormancy. *The Plant Cell*, 9: 1055-1066p.
- **Bonjean A et Picard E. 1990.** Les céréales à paille origine, historique, économie et sélection. Eds Nathan, 235 p.
- **Bonjean A. 2001.** Histoire de la culture des céréales et en particulier celle de blé tendre (*Triticum aestivum* L.). Dossier de l'environnement de l'INRA, 21: 29-37p.
- **Boumaaza B. 2011.** Effets de la salinité sur le comportement écophysologique et biochimique d'une culture de pois chiche (*Cicer arietinum*. L) au stade invénile. Mémoire de Magister. Université Abou BekrBelkaid Tlemcen.
- **Boumia O. 2011.** Interaction fluridone et salinité sur la germination des graines du Gombo (*Abelmoschus esculentus* L.). Mémoire de magistère. Université d'Oran.
- **Bozzini A. 1988.** Origin, distribution and production of durumwheat in the world. In
- **Bray E et Ziegler P. 1989.** Biosynthesis and degradation of starch in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology. And plant mol. Bio.*, 40: 95-117p.
- **Chaussat R., 1999.** Productions végétales : croissance et développement des plantes. Ed., Paris: 1-6p.
- **Chaux et Foury. 1994.** Maitrise des facteurs de production, qualité et traitement des semences, mise en culture par semis en place in *Production légumière*. Tec et Doc. Lavoisier. Pp 277-431-445.
- **Clark et al. 2002.** Concentration of cadmium and other elements in the grain of near-isogenic durum lines. *Can. J. Plant Sci. /Revue canadienne de phytotechnie.* 82 : 27-33 p.
- **Clerget Y. 2011.** Biodiversité des céréales : Origine et évolution. Montbéliard. 17p. Fabiani G. & Lintas C. (éd). *Durum: Chemistry and Technology*. AACC (Minnesota). Etats-Unis : 1-16 p.
- **Feillet. 2000.** Le grain de blé : composition et utilisation. INRA. Paris.
- **Feillet. 2000.** Effect of pH maximum shift of the α -amylase of *Bacillus coagulans*. *Carbohydrate Research*. P 311-318.

- **Feliachi K, Amroune R et Khaldoune. 2001.** Impact de la sécheresse sur la production des céréales cultivées dans le nord de l'Algérie: céréaliculture N0 35.ED. ITGC. Algérie.
- **Fritas S .2012.** Etude bioécologique du complexe des insectes liés aux cultures céréalières dans la région de Batna. (Algérie). Mémoire de Magistère. Université Abou Bakr Belkaid.Tlemcen.
- **Gate P et Giban M.2003.** Stades du blé. Ed. Paris, ITCF. 68p.
- **Gate PH. 1995.** Ecophysiologie du blé. Technique et documentation. Lavoisier, Paris, 351p.
- **Guergah N. 1997.** Contribution à l'étude de l'effet de la profondeur de semis sur le comportement d'un génotype de blé dur (*Triticum durum* Desf.) en pot et en plein champs dans la région d'El-Khroub. Mémoire Ingénieur. Université Batna.
- **Guiga W.2006.** Identification des inhibiteurs de la germination de l'orge et mise au point d'un procédé de traitement des eaux de trempes en malterie en vue de leur recyclage. Mmoire de doctorant. Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires.
- **Hajlaoui. 2007.** Etude de la variabilité interspécifique de tolérance au stress salin du pois chiche (*Cicer arietinum* L.)au stade germination. www.researchgate.net.
- **Heller R, Esnault R et al. 2004.** Physiologie végétale II, développement. Ed., Dunod, Paris. 64-240p.
- **Hopkins W. G. 2003.** Physiologie végétale traduction de la 2ème Edition américaine par Serge R. Révision scientifique de Charle M. Edition Deboek. Université Bruxelles. 66-81, 237-309, 362-514p.
- **Ingram J et Bartlq D. 1996.** The molecular basis of dehydrationtolerance in plants. Annula Review of Plant Physiologie. And plant mol. Biologie., 47 :377-403p.
- **Ishida H Yoshimoto K et al. 2008.** MobilizationofRusisco and Stoma-Localized Fluorescent Proteins of Chloroplasts to the Vacuole by an ATG Gene-DependentAutophagicProcess. Plant Physiol. 148 : 142-155.
- **Jones H G. 1992.** Plant and Microclimates (Ed): A quantitative approach to environmental plant physiology, Cambridge UniversityPress London. In : **(KIANI, 2007)**.
- **Keating L Kelly C et Forgartry W. 1998.** Mechanism of action and the substrate

- **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.
- **Labbe M. 2004.** Ces étonnantes graines germées. Auvers sur oise : Labbé. Revues succinctes de livres et d'essais (critiques).
- **Lafon J.P. 1996.** Biochimie structurale in biologie des plantes cultivées. Tome 1 : Organisation physiologie de la nutrition. 2eme édition. Tec et Doc. Lavoisier. 102.
- **Lamaze T. 1994.** Résistance de plantes a la sécheresse: mécanismes physiologiques. Le sélectionneur Français, 45: 75-85p.
- **Langridge P et al. 2006.** Fonctionnalgenomics of abiotic stress tolerance in cereals. Briefings in functionalgenomics and Proteomics. 4(4) : 343-354.
- **Levy G. 1998.** Biologie des plantes cultivées. Tome 1, Organisation, physiologie de la nutrition. 2eme édition. Paris.
- **Marouf A et Reynaud J. 2007.** La botanique de A à Z. 1662 définitions. Ed Dunod : p.286.
- **Mazouz L. 2006 :** Etude de la contribution des paramètres phéno- morphologiques dans l'adaptation du blé dur (*Triticum durum* Desf.) dans l'étage bioclimatique semi-aride .Mémoire de Magistère. Université Hadj Lakhdar Batna.
- **Mihoub A Chaoui A et El Farjani E. 2005.** Changements biochimiques induits par le cadmium et le cuivre au cours de la germination des graines de petit pois (*Pisum sativum* L.). www.sciencedirect.com/sciences.
- **Monneveux P. 2002.** Bilan d'activités du laboratoire sur le thème : amélioration de la tolérance à la sécheresse du blé dur. UER de génétique et amélioration des plantes, ENSA-INRA Montpellier.
- **Mouellef A. 2010.** Caractères physiologiques et biochimiques de tolérance du blé dur (*Triticum durum* Desf.) au stress hydrique. Thèse de Magistère. Université Mentouri Constantine.
- **Mrani A et al. 2013.** Effet du stress salin sur la germination et la croissance de six variétés marocaines de blé. www.Jmaterenvirosci.com/.../135.JMES-524-2013-MraniAlaoui.
- **Nachit N. 1998 :** Durumwheatimprovement. In VARMA Ed. Cerealimprovement program 1986, ICARDA PUBL. 112EN, Aleppo, 78-101p.

- **Nadjem k. 2012.**Contriburion a l'étude des effets du semis direct sur l'efficience d'utilisation de l'eau et le comportement variétal de la culture de blé en région semi-aride. Thèse de Magistère. université Ferhat Abbes de Sétif.
- **Ouanzar S.2012.** Etude comparative de l'effet du semis direct et du labour conventionnel sur le comportement du blé dur (*Triticum durum* Desf.). Mémoire de magistère. Université .Farhat Abbes Sétif.
- **Oudjani W.2009.** diversité de 25 génotypes de blé dur (*Triticum durum* Desf.) : étude des caractères de production et d'adaptation. Mémoire de magistère. Université Mentouri Constantine.
- **Pomeranz Y. 1988.**Chemical composition of kernel structures. Wheat: chemistry and technology. Volume I: 97-158p.
- **Scriban. 1999.** Biotechnologie. 5eme édition. Paris. pp 404-407.
- **Soltner D. 1998.** Les grandes productions végétales : céréales, plantes sarclées, prairies. Sainte-Gemme-sur-Loire, Sciences et Techniques Agricoles.
- **Taiz et Zeiger. 2002.** Plan physiology. 3rd ed. Sinauer Association Publishers, Sunderland. 427p.
- **Talame C Ozturk N et Tuberosa R, 2007.**Barlytranscript profiles underdehydratationshock and drought stress treatments : a comparative analysis. Jornal of ExperimentelBotany 58 (2) : 229-240.
- **Talbert L.E. 1995.** Variability in wheatbased on lowcopy DNA sequencecomparisons. Genome, 38: 951-957 p.
- **Temagoult M. 2009.** Analyse de la variabilité de la réponse au stress hydrique chez des lignées recombinantes de Tournesol (*Helianthusannus* L.). Mémoire de magistère. Université Mentouri Constantine.
- **Terrones G et Burny. 2012.** Evolution du marché mondial du blé au cours des cinquante dernières années. www.gembloux.ulg.ac.be/.../LBfev.
- **Van S. 1994.** Wild wheats: amonograph of Aegilops L. and Amblyopyrum (Jaub. and Spach) Eig (Poaceae). Wageningen Agriculture UniversityPapers, (7).
- **Velasco R Salaminif et Bartlets D. 1994.** Dehydratation and ABA increasemRNAlevels and enzyme activity of cytosolic GAPDH in the resurrection plant. Plant mol. Biol., 26: 541-546p.

- **Verslues P Agarwal M et al. 2006.** Methods and concept in quantifying resistance to drought, salt and freezing abiotic stresses that affect plant water status. *The plant journal* 45 : 523-539.
- **Wang et al 1997.** Plasmon analyses of *Triticum* (wheat) and *Aegilops*: PCR-single-strand conformational polymorphism (PCR-SSCP) analyses of organellar DNA. *PNAS.*, 94: 14570-14577p.
- **Wang J.R Wei Y.M Long X.Y et al.2008.** Molecular evolution of dimeric α amylase inhibitor genes in wild emmer wheat and its ecological association. Research article. *BioMedCentral*.
- **Wang W. 2003.** Plant response to drought, salinity and extreme temperature : towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta* 218 : 1-14.
- **Wardlaw IF. 2002.** Interaction between drought and chronic high temperature during kernel filling in wheat in a controlled environment. *Annals of Botany*, 90, 469-476p.
- **Yokota A Takahara K et Akashi K. 2006.** *Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants*. Springer: 15-39p.
- **Zamour K. 2014.** Etude des effets du déficit hydrique sur le processus de germination chez le blé dur (*Triticum durum* Desf). Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen.
- **Zhu J K.2001.** Plant salt tolerance *Trends in Plant Sci.* 6 : 66-71.

Annexes

Annexe.01 : solution d'extraction des protéines

(A) Solution de précipitation :

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

(B) Solution de rinçage:

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

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

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

Annexe.02: 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

Annexe.03: Préparation des gels

Gel de séparation (running gel) T= 15% et C = 0.027% (pour 2 gels)

Bis acrylamide à 40%	$1.5 \times 2 = 3 \text{ ml}$
Eau distillée	$2.15 \times 2 = 4.3 \text{ ml}$
1.5M Tris – HCl pH 8.8	$1.5 \times 2 = 3 \text{ ml}$
SDS à 10%	$60 \times 2 = 120 \text{ } \mu\text{l}$
APS à 1%	$30 \times 2 = 60 \text{ } \mu\text{l}$
TEMED	$6 \times 2 = 12 \text{ } \mu\text{l}$

Gel de concentration (stacking gel) T= 4%

Bis acrylamide à 40%	$0.2 \times 2 = 0.4 \text{ ml}$
Eau distillée	$1.27 \times 2 = 2.54 \text{ ml}$
Tris – HCl pH 6.8	$0.5 \times 2 = 1 \text{ ml}$
SDS à 10%	$20 \times 2 = 40 \text{ } \mu\text{l}$
APS à 1%	$10 \times 2 = 20 \text{ } \mu\text{l}$
TEMED	$2 \times 2 = 4 \text{ } \mu\text{l}$

Nom BOUAKEZ Dalal

Le : 16 /06/2015

HAMADOUCHE Ismahane

Mémoire pour l'obtention du diplôme de : Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie et Ecologie Végétales

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie et Génomique Végétales

Thème : Effet du stress hydrique au stade de germination sur la croissance de quelque génotypes 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.

La phase de germination constitue l'une des étapes les plus sensibles aux effets engendrés par ces stress. Le travail présenté traite les impacts du déficit hydrique exprimés par l'abaissement du potentiel hydrique du milieu sur les principales phases de la germination. Deux niveaux de potentiel osmotique provoqués par des solutions de PEG 6000 avec un témoin ont été adoptés dans les milieux de germination des graines de six génotypes d'origine locale et introduit.

Les résultats obtenus démontrent que l'abaissement du potentiel osmotique réduit significativement la germination des graines, la teneur moyenne en eau et la croissance en longueur de la racine et de la partie aérienne.

D'autre part l'analyse électrophorétique par SDS-PAGE des protéines totales foliaires, montrent que le stress hydrique a inhibés certaines protéines et a induit quelques nouvelles, alors que d'autres ont été présentes chez les témoins et les stressées.

L'étude a montré que le comportement des génotypes n'est pas associée à une réaction physiologique ou biochimique isolée de la variété, mais à une stratégie englobant un ou plusieurs mécanismes de tolérance et (ou) d'évitement de la contrainte hydrique.

Mots clés :

Blé dur, stade germinatif, stress hydrique, PEG 6000, électrophorèse SDS-PAGE.

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mme **YKHLEF Nadia**, Prof à l'UFM., Constantine.

Rapporteur : M^{elle}. **MOUELLEF Adra**, M.A.A à l'UFM., Constantine.

Examineurs : Mme. **KACEM Nadia Sandra**, M.A.A à l'UFM., Constantine.

Année universitaire : 2014/2015