



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

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



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

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département: Biologie et Ecologie Végétale

قسم: البيولوجيا و علم البيئة النباتية

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

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Biotechnologies

Spécialité: Biotechnologie et Génomique Végétale

Intitulé:

Étude de l'influence de deux osmotocums sur la croissance des plantules de blé dur

Présenté et soutenu par: SEDRATI Narimene

&

LAKEHAL Randa

Le: 27/06/2018

Président du jury: Pr. YKHLEF N.

Rapporteur: Dr. BOUSBA R.

Examineurs: Dr. LOUALI.

Année universitaire
2017 – 2018

Dédicace

À cœur vaillant rien d'impossible, à 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

*Mon frère: Mohamed
Et mes soeurs: Amel, Chaima et Belkiss*

À

Toute ma famille

Narimene

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

Mes frères: zaki et yahia

Et mes sœurs: Faten, Nawel, Rana et ma belle sœur Asma

À

Mon fiancé Youcef

À

Toute ma famille

Randa

Remerciements

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

Nous tenons aussi à remercier notre encadreur Mme BOUSBA Ratiba Professeur à l'université des frères Mentouri d'avoir eu la gentillesse et la Patience pour son assistance tout au long de ce travail, de nous prodigué son aide, son encouragement continu et ses conseils afin que nous puissions terminer à bien notre travail.

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

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

Nous voudrions aussi remercier du fond du cœur,

Mlle LOUALI, maitre assistante à l'Université des frères Mentouri qui nous a fait l'honneur d'examiner notre travail, ses remarques constructives, ses conseils et encouragements.

Nous tenons à remercier également Mr. BELBEKRI Nadir, ingénieur de laboratoire, ainsi que

Mme BOULDEDJ Ryma et CHAFIKA pour leur disponibilité.

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

Résumé

Ce travail consiste à tester quelques paramètres de la germination et la croissance de la variété de blé dur Waha pour l'étude de la tolérance de cette variété à un stress osmotique par l'ajout de deux osmotocums (PEG6000 et mannitol). Deux essais ont été réalisés en chambre de culture, le premier consiste à une mise à germination des graines dans des boîtes de Pétri en présence de différentes concentrations des deux osmotocums (0, 5, 10, 15 et 20% de PEG6000 et de mannitol). Le deuxième essai a été réalisé en culture hydroponique sous les mêmes concentrations en osmotocums. Les mesures effectuées dont les paramètres de germination et les paramètres physiologiques, morphologiques et biochimique ont montré que le stress appliqué réduit la germination et retarde sa vitesse ainsi que le stress et sa durée affectent significativement la croissance et la teneur relative en eau pour les deux types d'osmotocums avec l'apparition de nouvelles bandes de faibles poids moléculaire sous une forte concentration de stress osmotique appliqué.

Mots clés: Blé, germination, PEG6000, Mannitol, tolérance, SDS PAGE.

Abstract

This Work consists in testing some parameters of the germination and growth of Waha durum wheat genotype for the study of the tolerance of this variety to osmotic stress by the addition of two osmoticums (PEG6000 and mannitol). Two experiments were carried out in a growth chamber the first comprises a seed germination into Petri dishes in the presence of different concentrations of the two osmoticums (0, 5, 10, 15 and 20% PEG6000 and mannitol). The second test was carried out in hydroponics under the same osmotic concentrations. The measurements whose germination parameters and physiological parameters, morphological and biochemical showed that the applied stress reduces germination and delays its speed as well as stress and its duration, significantly affect growth and relative water content for both types of osmoticums with the appearance of new low molecular weight bands under a high concentration of osmotic stress applied.

Key words: Wheat, germination, PEG6000, Mannitol, tolerance, SDS PAGE.

ملخص

أنجز هذا العمل لاختبار بعض المعايير لإنبات ونمو القمح الصليب من نوع *waha* المقاومة لهذا التنوع من الضغط الاسموزي يضاف اثنين من الاوسموتيكوم (PEG6000 ومانيتول). و يضم تجربتين: أجريت الأولى في غرفة النمو لإنبات البذور ووضعها في أطباق بتري في وجود تركيزات مختلفة (0، 5، 10، 15 و 20 % من PEG 6000 ومانيتول). و تم إجراء الاختبار الثاني في الزراعة المائية تحت نفس التركيزات. وقد أظهرت قياسات الإنبات والمعايير الفسيولوجية والمورفولوجية والكيميائية الحيوية أن الإجهاد المطبق يقلل من الإنبات ويؤخر سرعته، وكذلك مدة الإجهاد لها تأثيرًا كبيرًا على النمو ومحتوى الماء النسبي للتل من PEG6000 ومانيتول مع ظهور فرق جديد منخفض للوزن الجزيئي تحت تركيز عال من الضغط الاسموزي المطبق.

الكلمات المفتاحية: القمح، الإنبات، PEG6000، مانيتول، المقاومة، SDS PAGE.

Liste des abréviations

- ABA:** Acide abscissique.
- APS:** persulfate d'ammonium.
- APS:** Persulfate d'ammonium.
- AQP:** Aquaporines.
- BD:** Solution nutritive de *Broughton et Dillworth*
- CO₂:** Dioxyde de carbone
- CVG:** Coefficient de vitesse de germination
- EDTA:** Acide Ethylène Diamine
- FAO:** Food and Agriculture Organisation
- HSP:** Protéine de choc thermique.
- IG:** indice de germination
- ITGC:** Institut Technique des Grandes Cultures.
- KDa:** kilo dalton.
- LEA:** Protéine Late Embryogenesis Abundant.
- MAPK:** Mitogen-Activated Protein Kinase .
- MJG:** Moyenne journalière de germination
- PEG:** Polyéthylène glycol.
- PF:** Poids frais.
- PM:** poids moléculaire.
- PS:** Poids sec.
- PT:** Poids à la turgescence
- S1:** stress a concentration 5%
- S2:** stress a concentration 10%
- S3:** stress a concentration 15%
- S4:** stress a concentration 20%
- SDS-PAGE:** Sodium Dodecyl Sulfate polyacrylamide gel electrophoresis
- T0:** témoin
- TCA:** acide trichloroacétique.
- TCA:** Acide Trichloracétique.
- TEMED:** tétraméthyl-éthylène-diamine Tétracétique
- TG:** taux de germination
- TRE:** Teneur Relative en Eau.
- Tris:** trishydroxyméthylaminométhane.

Liste des figures

Figure 01: Origine génétique du blé dur	04
Figure02: Phylogénie de blé.....	04
Figure03: Morphologie de blé dur.....	05
Figure 04: Anatomie du grain de blé.....	08
Figure05: Courbe théorique de la germination.....	10
Figure06: Germination de grain du blé.....	11
Figure07: 1 ^{er} essai dans les boites de pétri en chambre de culture.....	20
Figure08: Dispositif expérimental du 2eme essai.....	24
Figure09: la migration de gel dans la cuve BIORAD.....	27
Figure10: Taux de germination de la variété waha en fonction de la concentration de mannitol et de PEG6000.....	29
Figure11: Effets de différentes concentrations de PEG6000 et du mannitol sur la cinétique de germination de la variété Waha.....	30
Figure12: La longueur d'épicotyle et racine des plantules de la variété de Waha après cinq jours de germination en fonction de différentes concentrations de Mannitol et PEG6000.....	31
Figure13: Moyenne journalière de germination de la variété waha en fonction de différentes concentrations de PEG6000 et mannitol.....	31
Figure14: Coefficient de vitesse de germination de la variété waha en fonction de différentes concentrations de PEG6000 et mannitol.....	32
Figure15: Indice de germination de la variété waha en fonction de différentes concentrations de PEG6000 et mannitol.....	32
Figure16: Réversibilité de l'action du mannitol et taux de germination Sous trois concentrations de mannitol 10 g/L, 15g/L et 20g/L.....	33
Figure17: La longueur de la tige des plantules de la variété Waha en fonction du temps et de différentes concentrations de PEG6000 et de mannitol.....	34
Figure18: La longueur de la racine des plantules en fonction du temps et sous différentes concentrations de PEG6000 et de mannitol.....	37
Figure19: la biomasse totale des plantules de la variété Waha en fonction du temps et sous différentes concentrations de PEG6000 et mannitol.....	40
Figure20: Teneur relative en eau des feuilles des plantules de la variété Waha en fonction du temps et de différentes concentrations de PEG6000 et de mannitol.....	43
Figure21: Profil électrophorétique SDS-PAGE des protéines totales des feuilles de la variété Waha dans les conditions de stress appliqué par le PEG6000 et le mannitol.....	46

Liste des tableaux

Tableau01: caractères agronomiques morphologiques, culturaux de la variété étudiée.....	19
Tableau02: les composants de milieu BD.....	22
Tableau03: Analyse de variance de longueur de tige obtenue sous différentes concentrations de PEG6000 appliqués et en fonction de la durée du stress.....	34
Tableau04: Analyse de variance de longueur de tige obtenue sous différents concentrations de mannitol appliqué et en fonction de la durée de stress.....	35
Tableau05: Classement des concentrations applique par le PEG6000 chez la variété étudiée selon la longueur de la tige (cm).....	35
Tableau06: Classement de concentrations appliquées par le mannitol chez la variété étudiée pour longueur de tige.....	35
Tableau07: Classement de la durée du traitement appliqué par le PEG6000 chez la variété étudiée pour longueur de tige	36
Tableau08: Classement des jours de traitement appliqué par le mannitol chez la variété étudiée pour longueur de tige	36
Tableau09: Analyse de variance de longueur de racine obtenue sous différentes concentrations de PEG6000 appliqués en fonction de la durée du stress.....	37
Tableau10: Analyse de variance de longueur de racine obtenue sous différents concentrations de mannitol appliqué en fonction de la durée du stress.....	37
Tableau11: Classement des concentrations applique par le PEG6000 chez la variété étudiée pour longueur de racine.....	38
Tableau12: Classement des concentrations applique par le mannitol chez la variété étudiée pour longueur de racine.....	38
Tableau13: Classement des jours de traitement applique par le PEG6000 chez la variété étudiée pour longueur de racine.....	39
Tableau14: Classement des jours de traitement applique par le mannitol chez la variété étudiée pour longueur de racine.....	39
Tableau15: Analyse de variance de la biomasse totale obtenue sous différents concentrations de PEG 6000 appliqué et en fonction de le durée de stress.....	40
Tableau 16: Analyse de variance de la biomasse totale obtenue sous différents concentrations de mannitol appliqué et en fonction de la durée du stress.....	40
Tableau17: Classement des concentrations applique par le PEG6000 chez la variété étudiée pour la biomasse totale.....	41
Tableau18: Classement des concentrations applique par le mannitol chez la variété étudiée pour la biomasse totale.....	41

Tableau19: Classement des jours de traitement applique par le PEG6000 chez la variété étudiée pour la biomasse totale.....	41
Tableau20: Classement des jours de traitement applique par le mannitol chez la variété étudiée pour la biomasse totale.....	42
Tableau21: Analyse de variance de teneur relatif en eau obtenue sous différents concentrations de PEG6000 appliqué en fonction de la durée du stress	43
Tableau22: Analyse de variance de teneur relatif en eau obtenue sous différents concentrations de mannitol appliqué et en fonction de la durée du stress.....	44
Tableau23: Classement des concentrations applique par le PEG6000 chez la variété étudiée pour le teneur relatif en eau	44
Tableau24: Classement des concentrations applique par le mannitol chez la variété étudiée pour le teneur relatif en eau.....	44
Tableau25: Classement des jours de traitement applique par le PEG6000 chez la variété étudiée pour le teneur relatif en eau.....	45
Tableau26: Classement des jours de traitement applique par le mannitol chez la variété étudiée pour le teneur relatif en eau.....	45
Tableau27: récapitulatif du nombre de bandes révélés par électrophorèse SDS-PAGE de la variété de blé dur (Waha) sous l'effet de deux osmotocums appliqués (PEG6000, mannitol) et en présence de témoin pendant 1h.....	46
Tableau28: Diagramme présence/absence des bandes dans les feuilles d'un seul génotype de blé dur étudié soumis au différents stress appliqué par le PEG6000et le mannitol pendant1h.....	47

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction générale	01

Chapitre I: Revue bibliographique

1. Le blé dur (<i>Triticum durum</i> Desf.)	03
1.1. Historique et répartition géographique du blé	03
1.2. Origine génétique	03
1.3. Classification botanique et description morphologique de la plante	04
1.4. L'appareil végétatif	05
1.4.1. Le système racinaire	05
1.4.2. Le système aérien	05
1.4.3. L'appareil reproducteur	06
1.5. Cycle de développement du blé dur	06
1.5.1. La période végétative	06
1.5.2. La période reproductrice	07
1.6. La germination	07
1.6.1. Le grain de blé	07
1.6.2. Composition de grain du blé	08
1.6.3. Définition de la germination	09
1.6.4. Condition de germination	09
1.6.5. Facteurs externes de germination	09
1.6.6. Physiologie de la germination	10
2. L'importance et la production de blé dans le monde et en Algérie	12
3. La culture de blé dur	12
4. Les stress abiotiques et leurs effets sur la plante	12
4.1. Notion de stress	13
4.2. Stress abiotique	13
4.2.1. Le stress hydrique	13
4.2.2. Le stress salin	13
4.3. Stress osmotique	14
4.3.1. Effets du stress osmotique	14
4.3.2. Mécanismes de perception et signalisation lors du stress osmotique	15
4.4. Accumulation des osmolytes face aux stress abiotique	17
➤ Sucres et dérivés	17
➤ La proline	17
➤ La glycine bêtaïne	18

Chapitre II: Matériel et méthodes

1. Matériel végétal	19
2. Protocole expérimentale	19
2.1. Premier essai	19
2.2. Les paramètres mesurés	20
➤ Taux de germination final	20
➤ Cinétique de germination	20
➤ Moyenne journalière de germination	20
➤ Longueurs des racines et des épicotyles	21
➤ Réversibilité de l'action du stress	21
➤ Coefficient de vitesse de germination	21
➤ Indice de germination	21
2.3. Deuxième essai	21
2.3.1. Pré germination des graines	21
2.3.2. Mise en culture hydroponique	22

2.3.3. Application des stress abiotique.....	22
➤ Application de stress par le PEG6000 et de mannitol.....	23
2.3.4. Paramètres morphologiques.....	24
➤ Longueurs des racines principales et des tiges.....	24
➤ La biomasse totale.....	24
2.3.5. Teneur relative en eau (TRE %)......	24
2.3.6. L'analyse des protéines totales par SDS PAGE.....	24

Chapitre III : Résultats et discussions

I. Analyse des paramètres de germination.....	29
II. Analyse des paramètres morphologiques.....	34
III. Analyse de teneur relative en eau (TRE %).....	43
IV. Analyse de protéines totales par SDS PAGE.....	45
Conclusion et perspectives.....	50
Annexe.....	51
Références bibliographiques.....	54
Résumé	

Introduction

Introduction

Les céréales constituent une part importante des ressources alimentaires de l'homme et de l'animal. Parmi ces céréales, Le blé dur (*Triticum durum Desf.*) est une plante annuelle de la classe des Monocotylédones de la famille des poaceae, de la tribu des Triticées et du genre *Triticum* (Feillet., 2000). Cette espèce est la deuxième plus importante du genre *Triticum* après le blé tendre. En plus, le blé est une source importante de protéines dans les pays en voie de développement.

Le blé dur est une céréale secondaire à l'échelle mondiale. Cette production est surtout localisée dans le bassin méditerranéen d'une part (Europe du Sud, Moyen orient, Afrique du Nord), et en Amérique du Nord d'autre part (Canada central et Nord des USA), où est produit le quart du blé dur mondial (Clerget. 2011).

Le blé est cultivé principalement dans les pays du bassin Méditerranéen à climat des régions arides et semi-arides là où l'agriculture est dans la plus mauvaise passe. Elle se caractérise par l'augmentation de la température couplée à la baisse des précipitations, en plus la désertification et la sécheresse tuent les sols agricoles (Abeledo et al. 2008).

La production de blé en Algérie était toujours liée aux effets du stress hydrique qui se fait ressentir de manière très importante depuis la dernière décennie (Chaise et al. 2005).

Plusieurs études ont montré que, face à un stress abiotique, les plantes étant un organisme sessile, adoptent des stratégies d'acclimatation et de tolérance qui diffèrent en fonction de l'espèce et des conditions du milieu et qui font intervenir une large combinaison et de modification des facteurs morphologiques, physiologique, biochimique et moléculaire. Ces modifications sont régies par tout un assortiment de gènes, dont l'expression résulte en des changements dans les programmes transrationnels, conduisant à l'expression et la synthèse de nouvelles protéines

.Afin de réguler la croissance, le développement et la physiologie de la plante ainsi que leur rendement. (Bhargava et Sawant, 2013)

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

La tolérance aux stress abiotiques tel que le stress hydrique, est une qualité largement recherchée chez les végétaux d'intérêt agronomique tel que les céréales afin d'élargir leur culture dans les régions arides et semi arides

La réponse des espèces végétales au stress dépend de leurs génotypes, de l'intensité du stress et du stade de développement de la plante (M. Mrani Alaoui et al, 2013)

La germination est considérée comme l'un des stades les plus critiques dans le cycle de la vie de la plante (Almansouriet al, 2001; Hadas, 2004). Vue son importance dans le déroulement des stades ultérieurs du développement et croissance des plantes notamment en zone aride, afin d'observer le comportement germinatif et la croissance du blé dur vis-à-vis a un stress osmotique , nous avons appliqué un stress abiotique par l'ajout de deux osmoticums (PEG6000 et mannitol) à des concentrations croissantes au milieu , dont l'objectif est d'étudier les effets de ces osmoticums sur la germination des graines, et ceci en utilisant

plusieurs paramètres rencontrés dans la bibliographie, afin d'identifier les critères les plus adéquats pour choisir les tests de sélection et d'amélioration.

Ce mémoire est structuré en trois grands chapitres :

Le chapitre I: Représente une synthèse bibliographique qui se base sur des généralités sur le blé dur le effet de stress osmotique sur la croissance de la plante et enfin la synthèse des protéines liées à la tolérance au stress

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

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

Le mémoire est achevé, par une conclusion et des perspectives, suivies d'une liste de Références bibliographiques et d'annexe.

Chapitre 01
Revue bibliographique

1. Le blé dur (*Triticum durum* Desf.)

1.1. Historique et répartition géographique du blé

Depuis la naissance de l'agriculture, le blé est à la base de la nourriture de l'homme (Ruel, 2006). 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 (Feldman et Sears, 1981). Ceci correspond au début de la période du Dryas qui fut localement un épisode climatique de sécheresse et de refroidissement, qui a pu aboutir à l'arrêt progressif du mode de vie « chasseur-cueilleur » et entraîner la domestication de certaines plantes - dont les blés - et, via le stockage de stocks alimentaires, la création de premières communautés villageoises (Hayden, 1990 ; Wadley et Martin, 1993).

Les blés ont d'abord évolué en dehors de l'intervention humaine, puis sous la pression de sélection qu'ont exercée les premiers agriculteurs (Henry et de Buyser, 2001). En simplifiant, on peut considérer que la culture des blés a historiquement entraîné trois grands types de modifications :

Dans une première phase, qui correspond à la période de transition entre la collecte manuelle de formes sauvages dans leur habitat natif et l'apparition des premiers champs cultivés, le passage de formes à épi fragile à des types à rachis solide a été déterminant, ainsi que le repérage de mutants à épi facilement battable et grain nu.

D'autres modifications ont accompagné cette période comme le choix préférentiel de plantes érigées, à gros grain non dormant, germant uniformément et certainement un tri sur la couleur du grain, lié à des pratiques religieuses ou autres. Il est possible également que, dès cette étape, les agriculteurs aient pris conscience de l'intérêt du nombre d'épillets par épi, mais ce n'est pas certain (Bonjean, 2001).

On admet généralement que la culture de blé dur a commencé et s'est développée en Algérie au lendemain de la conquête Arabe. La plupart des auteurs s'accordent pour considérer que la céréaliculture algérienne est depuis cette date et jusqu'à la colonisation, très largement dominée par le blé dur (Laumont et Erroux, 1961).

1.2. Origine génétique

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

Le croisement naturel de *Triticum monococcum* (porteur du génome A) × *Aegilops spelta* (porteur du génome B) a permis l'apparition d'un blé dur sauvage de type AABB (*Triticum turgidum ssp.dicoccoides*) qui a ensuite progressivement évolué vers *Triticum turgidum ssp.dicoccum* puis vers *Triticum durum* (blé dur cultivé) (Feillet, 2000) (Fig.01).

Triticum monococcum X *Aegilops spelta*

AA BB

$2n=2X=14$ $2n=2X=14$

Hybride

AB

$2n=2X=14$

Doublement chromosomique

Triticum turgidum

AABB

$2n=4x=28$

Triticum durum

AABB

$2n=4x=28$

Figure01: Origine génétique du blé dur (Debiton. 2010).

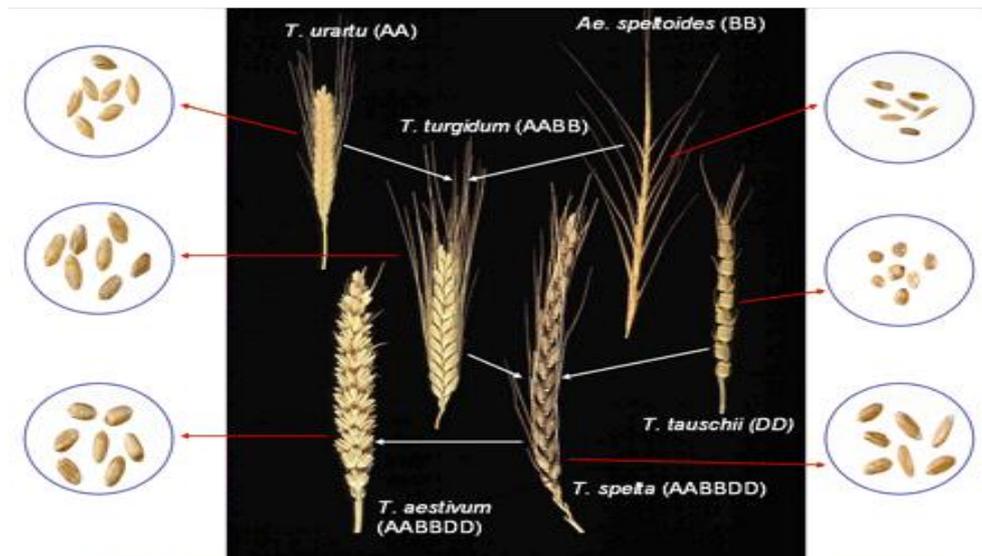


Figure02 : Phylogénie de blé (Shewry, 2009)

1.3. Classification botanique et description morphologique de la plante

Le blé dur est une plante herbacée, appartenant au groupe des céréales à paille. Il est une monocotylédone classée de la manière suivante : (Naville, 2005)

1. Classe : Angiospermes
2. Ordre : Monocotylédones
3. Famille : *Poacées (Gramineae)*
4. Tribu : *Hordées*
5. Genre : *Triticum*
6. Espèce : *Triticum durum*
7. Nom commun : Blé dur

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).

1.4. L'appareil végétatif

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).

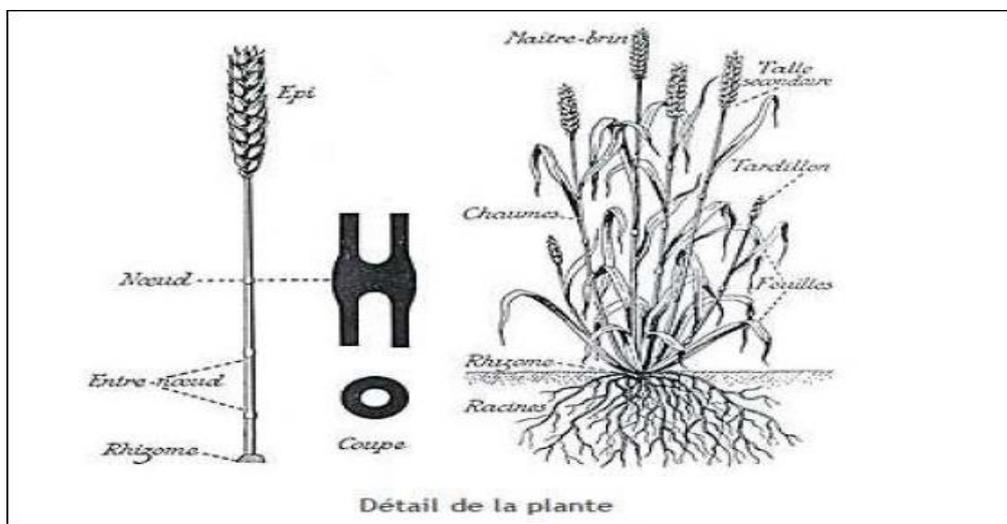


Figure03: Morphologie de blé dur (Anonyme a, 2003).

1.4.1. Le système racinaire

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).

1.4.2. Le système aérien

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. 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 (Clark et al, 2002).

1.4.3. L'appareil reproducteur

L'inflorescence du blé dur est un épi muni d'un rachis portant des épillets séparés par de courts entre-nœuds (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).

1.5. Cycle de développement du blé dur

Le cycle biologique du blé est une succession de périodes subdivisées en stades.

1.5.1. La période végétative

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

➤ Stade de germination

La germination du blé a lieu à des températures de 4-37°C, la coléoptile apparaît 4-6 jours après la germination, le coléoptile a pour rôle de protéger la première feuille (Karou et al.1998).

➤ 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 reproductrice, conditionnée par la photopériode et la vernalisation qui autorisent l'élongation des entrenœuds (Gate p, 1995).

1.5.2. La période reproductrice

➤ **Stade montaison – gonflement**

La montaison débute à la fin du tallage, elle est caractérisée par l'allongement des entrenœuds 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.

➤ **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 (Gate p, 1995).

➤ **Stade 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.

1.6. La germination

1.6.1. Le grain de blé

Sur le plan morphologique, le grain a une forme ovoïde de coloration blanchâtre à brunâtre avec un sillon sur la face ventrale, il est de taille de 6.5 à 8.5 mm de long et son diamètre de 3 à 4mm. Histologiquement, le grain de blé dur est formé de trois types de tissus le germe (3% du poids du grain), les enveloppes (17%) et l'albumen (80%) (Fredot, 2005) (Fig.04).

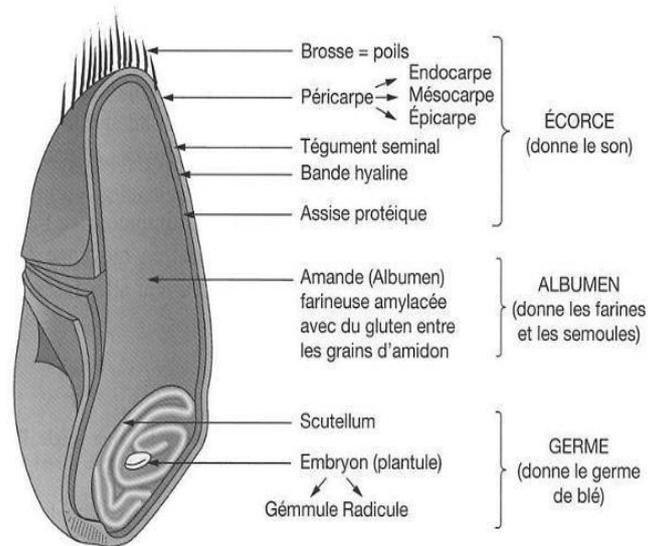


Figure04: Anatomie du grain de blé (Fredot, 2005)

1.6.2. Composition de grain du blé

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

- **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 seminal et la bande hyaline. - L'assise protéique : qui représente 60% du poids des enveloppes et constituée de cellules à aleurones, riches en protéines (Soltner, 1987).
- **Le germe :** Il représente 2,5 à 3 % du grain et comprend : - Le cotylédon ou scutellum, séparé de l'amande par une assise diastasique destinée à la digestion future de l'albumen au profit de la plantule. - La plantule, avec sa gemmule recouverte d'un étui, la 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).
- **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).

1.6.3. Définition de la germination

La germination est une phase physiologique qui correspond à la transition de la phase de vie latente de la graine sèche à la phase de développement de la plantule. Le processus de germination commence dès que la graine sèche est hydratée. La cinétique de prise d'eau permet de caractériser la germination en trois phases (Beweley, 1997).

La germination recouvre la séquence des événements allant de la graine au repos jusqu'à l'obtention d'une plantule autotrophe (viable). Les réserves qui jusque-là assuraient le métabolisme résiduel de l'embryon vont être activement métabolisées pour assurer la croissance de la plantule (Laurent et *al*, 1991 ; Mazoyer, 2002).

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 (Bensaadi, 2011).

Elle 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 (Boumia, 2011).

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.

1.6.4. Condition de germination

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

1.6.5. Facteurs externes de germination

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

➤ 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, 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 croit (Gate et Giban, 2003).

1.6.6. Physiologie de la germination

La germination des graines comprend trois principales phases :



Figure05 : Courbe théorique de la germination. (Bensaadi, 2011)

➤ Phase 1

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. La graine de blé absorbe 50% de son poids de départ. L'imbibition est rapide et réversible (Hsopkin, 2003).

➤ 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 apparent 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.

➤ Phase 3

Elle se caractérise 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 racicule 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 racicule, la division cellulaire ne soit pas indispensable.

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

- Le potentiel osmotique des cellules de la racicule 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 racicule est augmentée, ce qui permet de leur allongement,
- les tissus de la graine autour de la pointe de la racicule s'affaiblissent, permettant ainsi à la pointe de s'allonger (Bewelley, 1997)

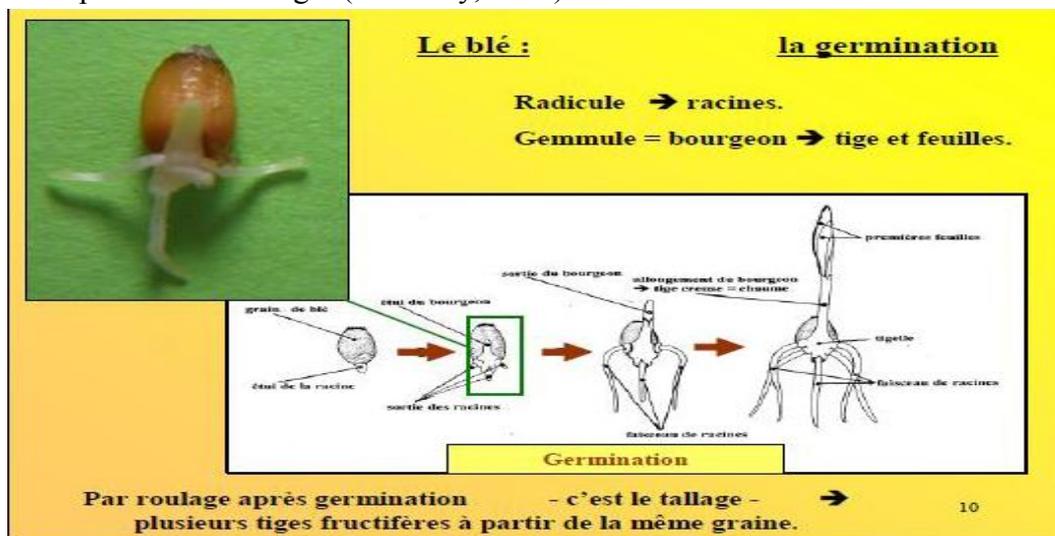


Figure06 : Germination de grain du blé (Clerget, 2011).

2. importance et production de blé dans le monde et en Algérie

Le blé dur est une céréale secondaire à l'échelle mondiale. Cette production est surtout localisée dans le bassin méditerranéen d'une part (Europe du Sud, Moyen orient, Afrique du Nord), et en Amérique du Nord d'autre part (Canada central et Nord des USA), où est produit le quart du blé dur mondial.

Les céréales et leurs dérivés constituent l'épine dorsale du système alimentaire algérien et elles fournissent plus de 60% de l'apport calorifique et 75 à 80% de l'apport protéique de la ration alimentaire. (FAO. B., 2015)

En Algérie, Le blé est la première céréale cultivée dans le pays. Elle occupe annuellement plus d'un million d'hectares. La production céréalière de la campagne 2012/2013 a atteint 49.1 million qu'au niveau national, en baisse de 9000.000 q par rapport a la saison précédente.

La sécheresse a frappé en 2013 les zones céréales de l'est du pays .ce constat s'est traduit par une hausse de 25% des quantités de céréales importées par l'Algérie.

Néanmoins ; cette hausse en termes de quantités n'a pas affecté le facteur d'importation qui a connu une légère baisse de 0,6% par rapport à l'année écoulée.

Les importations ont ainsi atteint 3,16 milliards de dollars en 2013, contre 3.18 milliards de dollars à la même période en 2012 reculant de 0.62%. Malgré le triplement de sa production depuis l'indépendance du pays en 1962 , l'Algérie, reste un des plus gros importateurs de céréales dans le monde (Clerget. 2011).

3. La culture de blé dur

Le blé est cultivé principalement dans les pays du bassin Méditerranéen à climat des régions arides et semi-arides là où l'agriculture est dans la plus mauvaise passe. Elle se caractérise par l'augmentation de la température couplée à la baisse des précipitations, en plus la désertification et la sécheresse tuent les sols agricoles (Abeledo et *al*, 2008).

4. Les stress abiotiques et leurs effets sur la plante

Sous les conditions de production des principales zones céréalières algériennes, la plante est le plus souvent soumise à une série de contraintes de nature abiotique. Les plus importantes de ces contraintes, suite aux rôles majeurs qu'elles jouent dans les fonctions essentielles de la plante, sont la variation de la précipitation, de la température, de l'humidité du sol, et de la salinité, ces stress se traduisent chez les plantes par des changements morphologiques, physiologiques et moléculaires qui affectent leur mode de vie (Chennafi et *al*, 2006).

4.1. Notion de stress

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

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

4.2. Stress abiotique

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

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

Un stress peut l'être pour une plante sans l'être pour une autre. Des facteurs comme l'âge sont importants et avec le réchauffement climatique, la pression exercée par certains stress augmentera très certainement (Chennafi et *al*, 2006).

4.2.1. Le stress hydrique

Le stress hydrique peut se définir comme le rapport entre la quantité d'eau nécessaire à la croissance de la plante et la quantité d'eau disponible dans son environnement, La demande en eau de la plante est quant à elle déterminée par le niveau de transpiration ou évapotranspiration (Drevon et *al*, 2001).

4.2.2. Stress salin

La salinité est définie selon plusieurs chercheurs comme étant la présence du processus pédologique selon lequel le sol s'enrichit anormalement en sels solubles acquérant ainsi un caractère salin, C'est un facteur environnemental très important qui limite la croissance et la productivité. La salinité élevée des sols due essentiellement au chlorure de sodium qui affecte le tiers des terres à l'échelle mondiale et constitue un facteur limitant prépondérant de la production végétale (Amireche , 2016/2017).

La salinité se rencontre en de nombreuses zones arides et semi arides du bassin méditerranéen (Drevon et *al*, 2001).

4.3. Stress osmotique

Le stress osmotique est une circonstance défavorable, qui dérange ou est susceptible de perturber le fonctionnement physiologique normal de la plante, qui affecte la croissance immédiatement et est causée par le sel à l'extérieur des racines. L'eau circule dans la plante du sol vers les feuilles où elle passe à l'état gazeux au niveau des parois cellulaires des cellules du mésophylle avant de s'échapper dans l'air ambiant en traversant l'épiderme, principalement par les stomates.

Cette circulation dépend du gradient du potentiel hydrique. Le stress salin exerce une contrainte primaire immédiatement et non spécifique par une baisse du potentiel hydrique du sol (Munns, et al, 2006).

4.3.1. Effets du stress osmotique

Le statut altéré de l'eau conduit à la réduction de la croissance initiale et de la limitation de la productivité végétale. Par l'effet perte d'eau, le stress osmotique affecte tous les processus importants chez la plante tels que le changement de conductivité hydraulique des tissus, le mouvement des stomates, la photosynthèse ou encore la croissance.

a) Effet du stress osmotique sur le changement de conductivité hydraulique des tissus

La plante est capable de contrôler l'absorption d'eau en ajustant la conductivité hydraulique de la membrane plasmique. Les aquaporines sont des protéines membranaires qui permettent un passage rapide des molécules d'eau d'un compartiment à l'autre. Cette fonction s'effectue par ouverture ou fermeture des pores associés à ces protéines. Chez la plante, les aquaporines sont les principaux facteurs qui exercent le contrôle sur la conductivité hydraulique tissulaire. Elles sont adaptées tant à des conditions de sécheresse que d'inondation, elles sont impliquées dans la préservation des réserves d'eau ou dans l'évacuation des excédents d'eau présents dans la plante (Cochard *et al.* 2007).

Au cours d'un stress hydrique, les aquaporines ne sont pas toutes réprimées, certaines sont surexprimées (Martre *et al.* 2002 ; Alexandersson *et al.* 2005).

b) Effet du stress osmotique sur la photosynthèse

Le stress osmotique non seulement perturbe les balances ioniques et éléments nutritifs des plantes mais également affecte le transport d'électrons photosynthétiques et les activités des enzymes pour la fixation du carbone (Parida et Das, 2004 ; Zhang *et al.* 2011).

c) Effet du stress osmotique sur l'accumulation des solutés compatibles

L'ajustement osmotique par l'accumulation des solutés compatibles est un processus omniprésent chez tous les organismes vivants. Les principales propriétés des osmoprotecteurs sont de préserver l'activité des enzymes dans les solutions salines (Yokoi *et al.*, 2002), de stabiliser la structure des protéines ou encore de détoxifier les ROS (Bohnert et Jensen, 1996). Ce sont des composés organiques qui possèdent des propriétés physiques et biologiques compatibles. Ces composés ont en commun la propriété d'être non chargés à pH neutre et d'avoir une haute solubilité dans l'eau. Ils sont localisés dans le cytoplasme (cytosol et organelles), plus rarement dans la vacuole.

d) Effet du stress osmotique sur la croissance et l'architecture

Face au stress osmotique, une diminution soudaine du potentiel hydrique du sol provoque la perte d'eau des cellules foliaires, entraînant une perte transitoire du volume de la cellule par turgescence. Elle réduit immédiatement non seulement l'expansion de cellules dans l'apex racinaire et dans les jeunes feuilles mais également provoque la fermeture des stomates. Bien qu'après quelques heures, les cellules retrouvent leur volume initial, les taux d'allongement des cellules sont réduits (Munns et Tester, 2008).

En conséquence, après plusieurs jours, les dimensions des cellules changent : les cellules sont plus petites et épaisses.

Le stress osmotique provoque un retard de croissance remarquable chez la plante glycophyte. Ce stress diminue de façon drastique non seulement les masses fraîches et sèches des tiges mais également le système racinaire qui est moins inhibé que la croissance des parties aériennes (Sharp *et al.*, 2004).

En revanche, la croissance de la zone apicale de la racine principale est maintenue pour permettre à la plante d'explorer le sol et de rechercher de nouvelles sources en eau mais aussi pour augmenter le volume de stockage des ions toxiques dans la vacuole en cas de stress salin (Sharp *et al.*, 2004).

Perez-Alfocea *et al.* (2011) ont montré, qu'en général, les stress osmotique et salin augmentent chez la plante non seulement la concentration d'ABA dans le xylème, mais aussi diminuent la concentration de cytokinines qui stimulent la croissance expansive et préviennent la sénescence prématurée des feuilles.

4.3.2. Mécanismes de perception et signalisation lors du stress osmotique

L'adaptation des plantes aux contraintes environnementales dépend de l'activation des cascades de réseaux moléculaires impliqués dans la perception du stress, la transduction des signaux, l'expression des gènes spécifiques relatifs aux stress abiotiques. Il a été montré que les stress salins, par le froid / chaud ou la pollution chimique, utilisent en partie la même

signalétique conduisant dans chacun des cas au stress osmotique (Xiong *et al*, 2002 ; Vinocur et Altman, 2005).

Une variété de gènes répond au stress osmotique dans diverses espèces de plante.

Dans les premières heures d'un stress osmotique, l'expression d'environ 30% des gènes est régulée (Kreps *et al*, 2002 ; Seki *et al*, 2002 ; Leonhardt *et al*, 2004 ; Zeller *et al*, 2009).

Ces gènes induits lors des conditions de stress ont pour fonction non seulement de protéger les cellules du déficit en eau par la production de protéines importantes pour le métabolisme, mais aussi de réguler l'expression des gènes pour la transduction du signal dans la réponse (Shinozaki et Yamaguchi-Shinozaki, 1997).

Ici sont résumées les connaissances actuelles sur les mécanismes de perception et de signalisation du stress osmotique :

1) Les signaux de stress extracellulaire : sont d'abord perçus par les récepteurs membranaires.

2) La réception des signaux de stress par les récepteurs entraîne des apparitions de messagers secondaires.

Le calcium joue un rôle en tant que la molécule messenger secondaire principale dans la plante sous diverses conditions de stress, y compris la salinité. Il a été montré que la modulation du pH et du Ca²⁺ cytosolique provoque un changement de lipides totaux et donc affecte l'intégrité des membranes (Kader et Lindberg, 2010). La voie inositol polyphosphate (InsP) est également impliquée dans les réactions des plantes au stress abiotique.

3) Des augmentations transitoires de Ca²⁺ cytosolique sont perçues par les différentes cascades de phosphorylations :

CDPK (Ca²⁺-dependent proteinkinases) (Sheen, 1996),

MAPK (mitogen activated protein kinase) (Rodriguez *et al*, 2010),

Protéines phosphatases.

4) Ces protéines kinases par la suite induisent l'expression des facteurs de transcriptions tels que :

- EREBP (Ethylene-Responsive Element Binding Proteins) (Riechmann et Meyerowitz, 1998),
- EREBP/AP2 (Liu *et al*, 1998),
- bZIP (basic leucine zipper) (Jakoby *et al*, 2002),

MYB (Abe *et al*, 1997). Ce sont les éléments clés qui contrôlent et modulent les voies d'adaptation de stress abiotique chez la plante (Gollmack *et al*, 2011). Il a été montré que ces facteurs de transcription se divisent en deux catégories, un groupe impliqué

- dans la voie dépendante de l'ABA (MYB, MYC, bZIP) et l'autre impliqué dans la voie indépendante de l'ABA (AP2/ERF) (Shinozaki et Yamaguchi-Shinozaki, 2007)

5) Les facteurs de transcription à leur tour activent l'expression des gènes de réponse au stress tels que :

Les gènes codant des LEA-like, antioxydants, synthèse d'osmolytes, enzymes, transporteurs, etc... Qui vont conduire à la mise en place des mécanismes de tolérance au stress.

4.4. Accumulation des osmolytes face aux stress abiotique

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

Ils s'accumulent majoritairement dans le cytoplasme et n'interfèrent en aucune mesure avec le métabolisme normal de la plante, Leur principal rôle étant, de préserver la turgescence des cellules, en maintenant une osmolarité intracellulaire égale à l'osmolarité extracellulaire, évitant ainsi un efflux (allant du dedans vers le dehors) d'eau de la cellule.

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

➤ Sucres et dérivés

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

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

➤ La proline

La proline est certainement l'un des osmolytes le plus répandu, en effet l'accumulation de la proline constitue un mécanisme de tolérance à la sécheresse (Bensalem et *al*, 2005), elle

semble jouer un rôle particulièrement important. On lui attribue un rôle d'osmoticum au niveau cytosolique et vacuolaire, mais aussi, un rôle dans la régulation du potentiel redox. (Bousba et *al*, 2009) En plus, de protéger les membranes et les enzymes contre les perturbations conformationnelles causées par les ions, mais l'origine de la proline accumulée sous stress, reste pas totalement éclaircie.

➤ **La glycine bétaine**

La glycine bétaine, est une petite molécule ultra soluble impliquée dans l'osmoprotection.

Le terme bétaine est utilisé invariablement pour désigner les composés suivants: la glycine bétaine, la β -alanine bétaine et la hydroxyproline bétaine. La synthèse de la bétaine augmente considérablement lorsque l'organisme est exposé à des facteurs environnementaux qui modifient les conditions internes des cellules. Ces conditions défavorables peuvent être créées par des stress tels que la chaleur, la salinité, la sécheresse (Neffar, 2013).

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

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

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

Chapitre 02

Matériel et méthodes

Matériel et méthodes

1. Matériel végétal

Le présent travail a porté sur le géotype *Waha* de blé dur (*Triticum durum* Desf) originaire de Syrie.

Les semences de la variété *Waha* utilisées sont répertoriées selon le catalogue officiel de l'ITGC et fournies par la station expérimentale de l'ITGC El khroub, Constantine.

Tableau01 : caractères agronomiques morphologiques, culturaux de la variété étudiée

Variété	Origine	Caractéristiques agronomiques et culturales	Tolérance aux contraintes climatique
WAHA	Syrie	Rendement élevé	-tolérance a la sécheresse -tolérance au froid

2. Protocole expérimentale

L'expérimentation a été réalisée au niveau du laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologies Végétales (GBBV), équipe 2 Amélioration des plantes à Chaabet El Rasses, Université Des Frères Mentouri, Constantine1.

Deux essais ont été réalisés dans le cadre de ce travail

2.1.Premier essai

L'expérimentation est conduite en chambre de culture. Elle consiste à étudier l'effet de deux osmoticums sur la croissance de blé dur (*Triticum durum* Desf.) à partir de la germination par l'ajout de ces osmoticums (polyéthylène glycol (PEG6000 et le Mannitol) à différentes concentrations dans le milieu de culture BD.

Les graines choisies ont été sélectionnées selon leur taille et leur forme. Les tests de germination ont été effectués sous différentes concentrations de PEG 6000 (polyéthylène glycol) et de mannitol. Un nombre de 90graines, sont désinfectées à l'eau de javel à 10% pendant 20 min, puis rincées plusieurs fois avec de l'eau distillée. Elles sont ensuite mises à germer dans des boîtes pétris, ces dernières sont tapissées par trois couches de papier filtre, chaque boîte contient 10 graines.

Le stress a été appliqué par l'ajout du PEG6000 et du mannitol à différentes concentrations : 5%, 10 %, 15% et 20% et le témoin a été réalisé par l'ajout de l'eau distillée en milieu de culture (Fig.07).

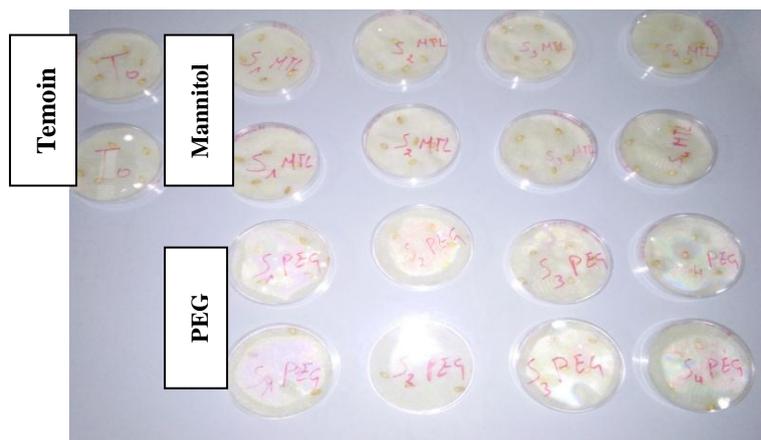


Figure07: 1^{er} essai dans les boites de pétri en chambre de culture

Les boites sont mises à l'obscurité dans une chambre de culture à une température de 25°C

2.2. Les paramètres mesurés

Après 5 jours de germination les paramètres de germination suivants sont mesurés

➤ Taux de germination final (G%)

Ce paramètre est exprimé par le rapport : nombre de graines germées sur le nombre total de graines (ISTA, 2003)

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

XT : le nombre total de graines germées

N : le nombre total des graines mises à germer

➤ Cinétique de germination

Pour mieux appréhender la signification physiologique du comportement germinatif des variétés étudiés, le nombre de graines germées ont été compté quotidiennement jusqu'au 5ème jour de l'expérience

➤ Moyenne journalière de germination (MDG= Mean Daily Germination) selon Osborne et al (1993)

Selon Osborne et Nercer, MDG est le Pourcentage de germination final/nombre de jours à la germination finale

➤ **Longueurs des racines et des épicotyles**

La longueur de la racine primaire et celle de l'épicotyle ont été mesurées à l'aide d'une règle graduée, et ce pour évaluer la croissance de la plante vis-à-vis du stress (Mefti et al, 2008).

➤ **Réversibilité de l'action du stress**

Ce paramètre a l'avantage de déterminer l'origine de l'effet dépressif des osmotocums, s'il est de nature osmotique et/ou toxique.

Les graines sont mises à germer en présence de différentes concentrations de PEG6000 et du mannitol pendant cinq jours. Au cinquième jour, les graines non germées sont rincées trois fois puis transférées dans d'autres boîtes de pétri contenant de l'eau distillée pendant cinq jours supplémentaires.

➤ **Coefficient de vitesse de germination (CVG) selon Kotowski (1926)**

$$CVG = 100. (N1+N2+...+Nx) / (N1T1+...+NxTx)$$

Avec N: nombre de graines germées chaque jour (le 1er, le 2^e jour, et ainsi de suite jusqu'au dernier jour 'x': autrement c'est le nombre de germination [Ni] comptées à Témoins le nombre de graines germées [Ni-1] recensées à Ti-1); T: durée en jours correspondant à N.

➤ **Indice de germination selon Scott et al, (1984)**

Il permet d'exprimer l'énergie de germination responsable de l'épuisement des Réserves de la graine. L'indice de germination est définie par (IG) (graines germées/jour)

$$IG=(N1) x1 + 1/2 x (N2 -N1) + 1/3 x (N3 - N2) ++ 1/n x (Nn-Nn-1)$$

IG: c'est le nombre des graines germées pendant les jours de l'essai 1.2.3.....n-1, n.
N : c'est le nombre des graines germésN1, (N1- N2)Nn (Haddad., 2001).

2.3. Deuxième essai

2.3.1. pré germination des graines

Les grains choisis ont été désinfectés dans une solution d'eau de l'hypochlorite sodium à 10% contenu dans l'eau de javel pendant 10 min puis ils ont été rincés 3 fois avec de l'eau distillée, après on laisse les graines une demi heure dans l'eau distillée pour le gonflement ,puis on places les graines dans une boite contenant trois couches de papier filtre imbibé d'eau pendant trois jours à l'obscurité à une température ambiante du laboratoire

2.3.2. Mise en culture hydroponique

le terme hydroponique provient du latin « hydro » (eau) et « ponos » (travail) consiste à émerger la partie racinaire de la plante dans un milieu nutritif, ce mode de culture, a été choisi car il permet : un meilleur contrôle et une meilleure homogénéisation de l'apport minéral, L'obtention de racines saines, indemne de toute perturbation pouvant interférer avec la réponse propre des plantes (Dubos., 2001), et permet aussi d'éviter les contraintes du sol, ce qui permet une croissance rapide et un bon développement des plantes dans des conditions totalement contrôlées.

En culture hydroponique, on doit tout d'abord germer les plantes jusqu'à obtention des racines pour pouvoir apporter les éléments minéraux qui se trouvent au niveau de la solution nutritive. Pour tous les avantages apportés par cette culture, on a choisi le milieu BD (Broughton et Dillworth) qui est constitué d'une quantité précise de macroéléments, microéléments et du fer dissouts dans un volume d'eau déterminé pour satisfaire les besoins des plantes. Pour la préparation du milieu de culture, nous avons utilisé des solutions mères préalablement préparées avec des concentrations connues et une date de conservation précise. (Annexe.01)

Tableau02 : les composants de milieu BD (Broughton et Dillworth)

Solution mères	Pour 100 ml	Volume à prélever
CaCl ₂ 2H ₂ O	50g	5ml/10L
KH ₂ PO ₄	20g	5ml/10L
MgSO ₄ 7H ₂ O	15g	5ml/10L
K ₂ SO ₄	10g	
Mn SO ₄	0.05g	
Fe EDTA	1g	12.5ml/L
Oligoélément	Pour 500ml	5ml/10L
H ₃ BO ₃	0.20g	
MgSO ₄ 7H ₂ O	0.20g	
Cu SO ₄ 5H ₂ O	0.10g	
Co SO ₄ 7H ₂ O	0.5g	
NaMoO ₄ 2H ₂ O	0.5g	

2.3.3. Application des stress abiotique

L'étude de l'effet du stress abiotique et les modifications qu'il induit au niveau de la plante a été réalisée par ajout des deux osmotocums à la solution du milieu BD.

Les osmotocums utilisés sont le polyéthylène glycol (PEG 6000) et le mannitol.

- **Le mannitol**

Le stress salin inhibe la synthèse du saccharose et promouvoit l'accumulation du mannitol. Cette accumulation semble être régulée par le catabolisme du mannitol lui-même. L'accumulation du mannitol entraîne la diminution du potentiel osmotique dans le cytoplasme, il s'ensuit une augmentation de l'habileté de ce dernier à retenir l'eau et par conséquent atténuer l'effet de Sécheresse physiologique que cause la salinité (Tester et Bacic, 2005).

- **Le PEG (Polyéthylène glycol)**

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

- **Application de stress par le PEG6000 et le mannitol**

L'influence du stress osmotique sur la variété de blé choisi est examinée par l'ajout du polyéthylène glycol (PEG 6000).

Le PEG 6000 utilisé ne nécessite pas de purification avant utilisation, sa masse molaire est suffisamment élevée pour limiter l'absorption racinaire, tout en préservant la fluidité de la solution nutritive, effectivement c'est un osmoticum idéalement utilisable en milieux hydroponiques.

Dans, des grains germés ont été placés dans des gobelets puis dans cinq grands tubes en plastiques troués chaque tubes contient dix gobelets et chaque goblet contient trois grains germés et placé dans chaqu'un, émergés ensuite dans une solution nutritive BD. Nous avons effectué dans ces derniers, (Fig.08)

le repiquage de nos jeunes plantules en milieu de culture a été réalisé à raison de cinq plantules par pot et 10 pots par tube, chaque tube représente un traitement (1 témoin, et les stressés : 5% ,10% ,15% ,20% de PEG6000 et les mêmes concentrations de Mannitol)

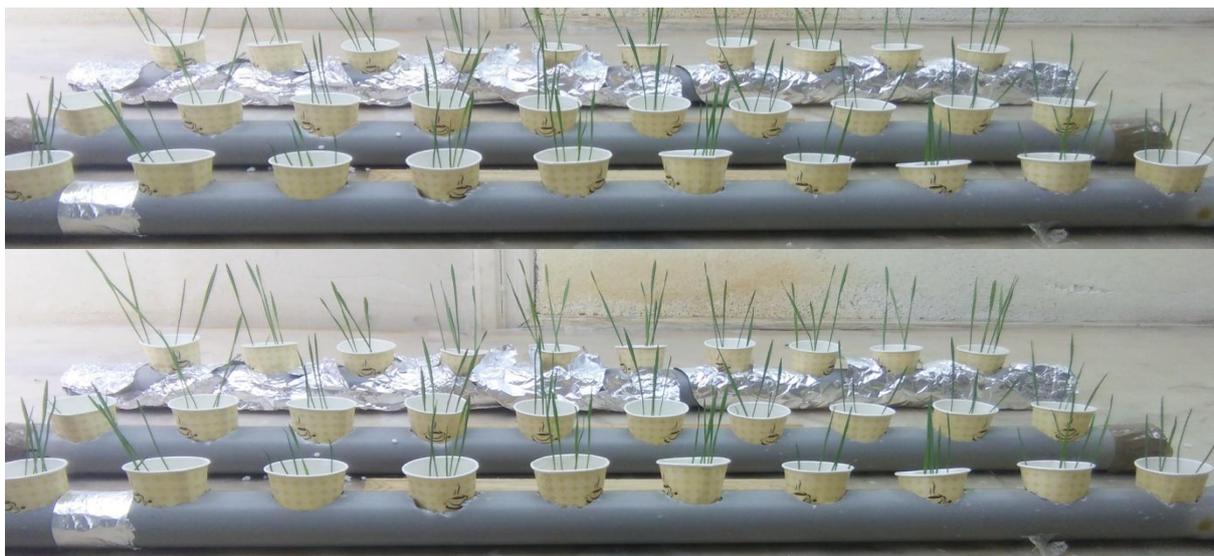


Figure08 : Dispositif expérimental du 2eme essai

L'essai a été installé en chambre de culture pendant cinq jours A une température de 25°C_5°C, une humidité relative de 70_5% et une photopériode de 16h de lumière par 8h d'obscurité.

Les paramètres suivants sont mesurés :

2.3.4. Paramètres morphologiques

➤ **Longueurs des racines principales et des tiges**

La longueur de la racine principale et celle de tige a été mesurées à l'aide d'une règle graduée, et ce pour évaluer la croissance de la plante vis-à-vis du stress.

➤ **La biomasse totale**

Aérienne, racinaire et totale (en g de matière sèche, pesées après séparation des organes (racines et partie aérienne))

2.3.5. Paramètres physiologiques

➤ **Teneur relative en eau (TRE %)**

Selon cette méthode les feuilles sont coupées à la base du limbe, elles sont pesées immédiatement pour obtenir leur poids frais (PF). Ces feuilles sont mises par la suite dans des tubes à essai remplis d'eau distillée à l'obscurité dans un endroit frais, après 24h les feuilles sont retirées dans un papier buvard pour absorber l'eau de la surface, pesées de nouveau pour obtenir le poids de la pleine turgescence (PT).

poids sec (PS). La teneur relative en eau est calculée par la formule suivante (Barrs, 1968).

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

2.3.6. Paramètre biochimique

➤ L'analyse des protéines totales par SDS-PAGE

A. 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 (on 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)

B. Extraction des protéines totales

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

On ajoute au broyat 1.8 ml de la solution de précipitation (solution A (Annexe.02))
Homogénéiser dans un tube Eppendorf de 2 ml et les laissés reposer pendant une nuit à -20°C.
Centrifuger pendant 20mn à 4°C et à 10 000 g à 4°C.

Eliminer le surnageant délicatement en renversant le tube (le culot ne doit pas décoller).
Laver les culots avec 1.8 ml de la solution de rinçage (solution B (Annexe.02)).
Laisser reposer 1h à - 20°C puis éliminé le surnageant délicatement (on peut faire une petite centrifugation si on voit que le culot s'est un peu décollé).

Sécher les culots dans l'étuve pendant 30 min sous la hotte chimique Resuspendre le culot dans 200 µg de tampon bleu Laemmli

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

Centrifuger les tubes Eppendorf à 10000 TA pendant 20min.
Récupérer le surnageant dans un nouveau tube de 1.5 ml et centrifuger 10 min à 10000 TA et conserver les échantillons à -20°C.

C. Préparation des gels

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

D. Le gel de séparation (running gel)

La concentration finale d'acrylamide qui a été choisie est de 12 % .Ce gel est constitué d'Acrylamide Bis 30% (p/v), de TrisHCL à pH=8.8, de SDS à 10 % (p/v) et d'eau distillée.
La réaction de polyacrylamide est catalysée par l'ammonium persulfate (APS) à 10 % (p/v) et le TEMED. (Annexe.03)

On prépare le gel en respectant les mesures et en travaillant en continuité.
La polymérisation de ces constituants est catalysée par (APS) et le TEMED, qui sont ajoutés en derniers. On applique le remplissage du gel par une seringue en plaquant sa queue contre la paroi de la première plaque, et en verse doucement le gel afin d'éviter la formation des bulles d'aires, on s'arrête au niveau marque (4cm), ce niveau sera rempli par le gel de concentration.

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

E. Le gel de concentration (stacking gel)

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

F. La migration

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

Ensuite, le bac supérieur situé entre les deux plaques (bien serré contre les joints pour éviter les fuites) est rempli lui aussi avec le même tampon jusqu'à ce que les faces supérieures des gels soient immergées. Cette dernière placée dans la cuve d'électrophorèse pour que les faces inférieures des gels plongent dans le tampon. Enfin, la cuve est fermée et reliée à un générateur qui va assurer le passage du courant électrique. la migration doit être réglée sous une tension déterminée à 125v et une intensité déterminée à 50mA 1h

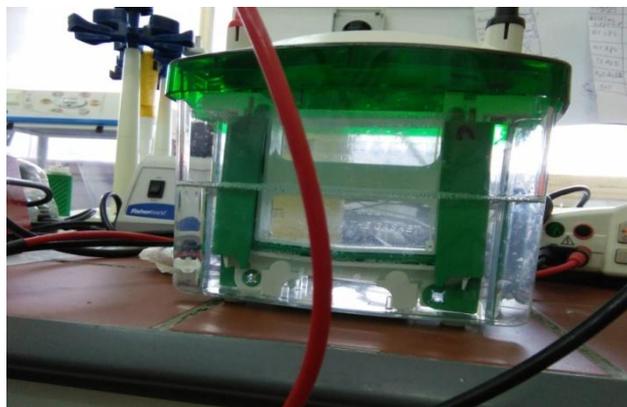


Figure09 : la migration de gel dans la cuve BIORAD

G. Coloration et décoloration

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

3. Analyse statistique

Pour toutes les concentrations utilisées, chaque résultat correspond à la moyenne de 10 répétitions. L'analyse de variance est effectuée par le test de Fisher à $\alpha = 5\%$ à l'aide XLSTAT-Excel 2014 et les moyennes sont comparées selon la méthode de Newman et Keuls à l'aide de. Chaque moyenne est affectée d'une lettre.

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 03

Résultats et discussions

Premier essai

I. Analyse des paramètres de germination

1) Le taux de germination (TG) (%)

Le taux de germination est variable en fonction des traitements (PEG6000 et mannitol), et leurs différentes concentrations.

La(Fig.10) montre que, la capacité germinative des graines stressées est la même par rapport au témoin pour la première et la deuxième concentration de PEG6000 qui est la meilleur valeur du (TG) (100%) Par contre elle est réduite comparativement au témoin et ceci pour les deux dernières concentrations qui marquent comme valeur minimale de (80%).

Pour le mannitol uniquement la première concentration (5%) qui montre la même valeur que celle du témoin, puis le TG commence a réduire au niveau du deuxième et troisième concentration qui marque une valeur faible de l'ordre de (30%). et se rapprochent de zéro sous stress sévère (S4 ; 20%) là ou on note une absence totale de la germination.

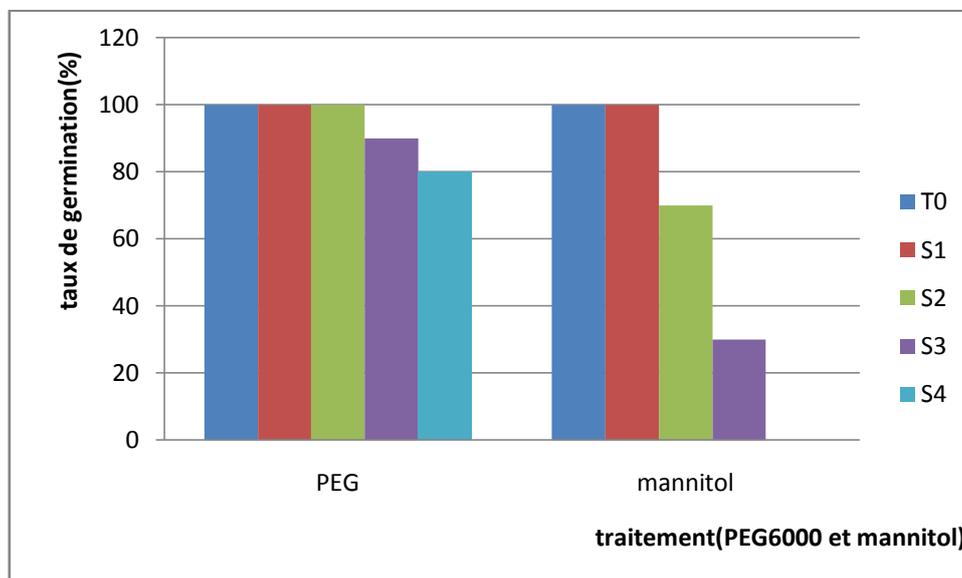


Figure10 : Taux de germination de la variété Waha en fonction de la concentration de mannitol et de PEG6000

2) Cinétique de germination

La (fig.11) présente l'évolution de la germination de la variété de blé étudiée en fonction du temps pour l'ensemble des traitements.

Les courbes de germination permettent de distinguer 3 phases:

- une phase de latence, nécessaire à l'apparition des premières germinations, au cours de laquelle le taux de germination reste faible. La durée de cette phase est variable selon la

concentration des osmotocums. Elle est absente chez les plantes témoins et celles irriguées par une concentration de 5 g/L et 10g/L de PEG 6000 et de mannitol. Mais, elle devient plus au moins longue, surtout chez les plantes soumises au traitement de 15 g/L et 20g/L des deux osmotocums pour lesquelles cette phase peut aller jusqu'à 2 jours.

- une phase sensiblement linéaire, correspondant à une augmentation rapide du taux de germination qui évolue proportionnellement au temps pour les plantes témoins et les plantes soumises à une concentration de 5 g/L et 10g/L. Pour la concentration de 15 g/L et 20g/L, cette phase est très courte, ce qui explique le taux de germination réduit dû à l'effet inhibiteur des deux osmotocums sur la germination.

Pour la concentration 20g/L de mannitol cette phase est absente donc le taux de germination est nulle

- une troisième phase correspondant à un palier représentant le pourcentage final de germination et traduisant la capacité germinative de la variété sous l'effet de deux osmotocums et pour toutes les concentrations. Il paraît que cette capacité germinative diminue mais avec des degrés différents, selon l'osmotocum et les concentrations appliquées.

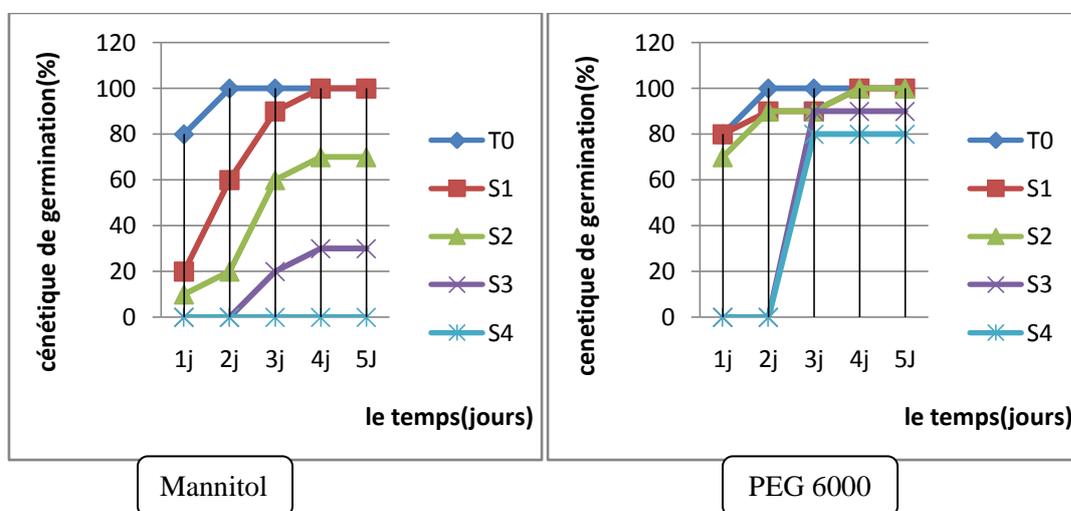


Figure 11 : Effets de différentes concentrations de PEG6000 et du mannitol sur la cinétique de germination de la variété Waha

3) Longueur de racine et d'épicotyle

Les résultats de l'analyse du système racinaire et aérien, sous différentes concentrations de PEG6000 et mannitol, sont présentés sur la (fig.12). En conditions de stress osmotique, la longueur des racines et des épicotyles est légèrement affecté pour les traitements (témoin, 5 et 10%).

En revanche, l'effet de deux osmotocums est très remarqué sous stress de 15 g/L et 20g/L

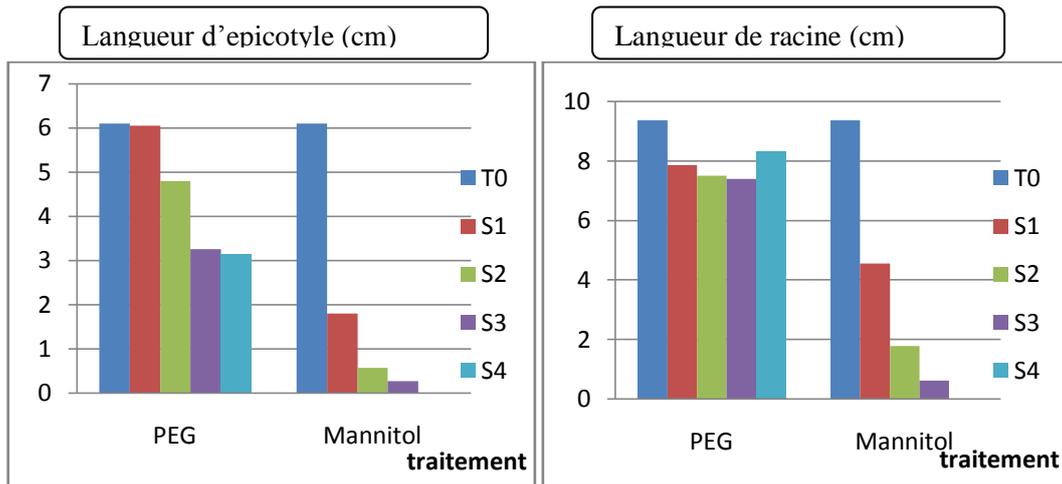


Figure12 : La longueur d'epicotyle et racine des plantules de la variété de Waha après cinq jours de germination en fonction de différentes concentrations de Mannitol et PEG6000

4) Moyenne journalière de germination (MJG)

Les moyennes journalières de germination (fig13) sont toujours plus élevées pour le PEG6000 que le mannitol sauf pour la concentration 5% qui est la même moyenne chez les deux osmotocums.

Nos résultats montrent une diminution importante de ce paramètre sous stress provoqué par le mannitol à 15% de l'ordre de 6graines germées /jour avec une absence totale de la germination sous stress sévère (20%).

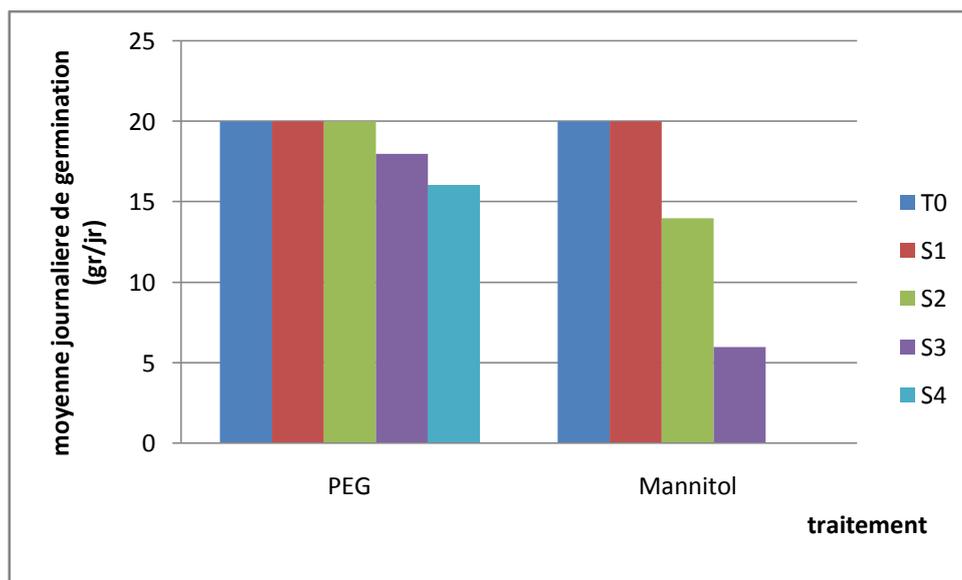


Figure13 : Moyenne journalière de germination de la variété Waha en fonction de différentes concentrations de PEG6000 et mannitol

5) Coefficient de vitesse de germination (CVG)

Le coefficient de vitesse de germination est affecté par le PEG6000 et le mannitol et varie en fonction de différentes concentrations (fig.14). Ainsi, on note que la CVG est élevé pour les

deux osmotocums mais sous le stress PEG6000 est supérieur à celle notée sous mannitol qui marque une absence de valeur sous stress de 20%(S4).

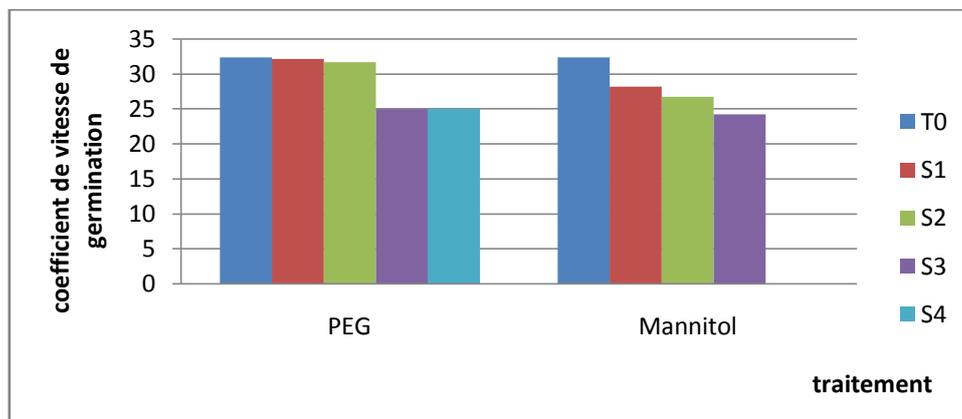


Figure14: Coefficient de vitesse de germination de la variété Waha en fonction de différentes concentrations de PEG6000 et mannitol

6) Indice de germination

L'indice de germination est plus élevé pour le PEG6000 que pour le mannitol (fig.15). En outre, pour le PEG6000, l'indice de germination n'est pas trop affecté à 5%(S1) et 10%(S2), contrairement aux concentrations 15%(S3) et 20%(S4) où l'IG diminue par rapport au témoin. Pour le mannitol, l'IG est diminuée à toutes les concentrations jusqu'à l'absence à 20% (S4).

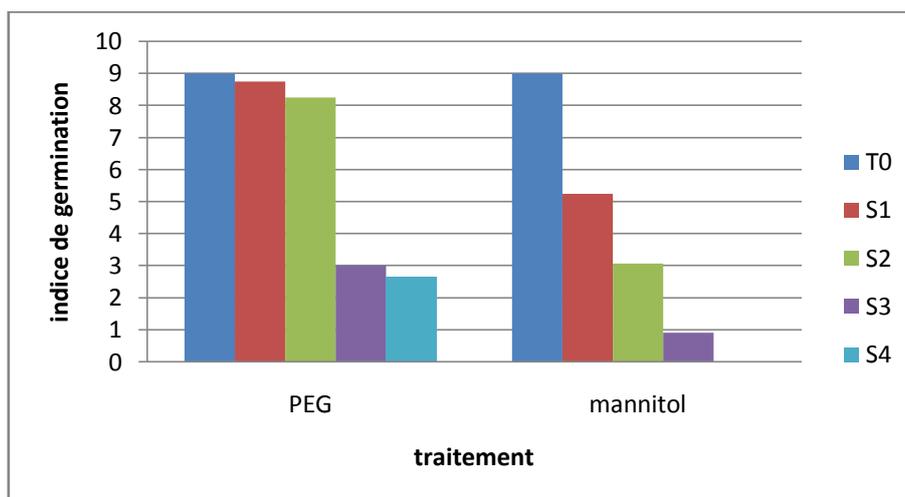


Figure15 : Indice de germination de la variété Waha en fonction de différentes concentrations de PEG6000 et mannitol

L'indice de germination diminue chez la variété Waha au fur à mesure l'intensité du stress appliqué la valeur la plus faible a été noté sous traitement mannitol et sous stress sévère (20%) de l'ordre de zéro enregistré sous l'effet de l'ajout du mannitol.

7) Réversibilité de l'action de mannitol

Les paramètres étudiés précédemment ont montré que le mannitol exerce, à fortes doses, un effet dépressif sur la germination des graines de variété de blé étudiée. Cette inhibition peut être osmotique et/ou toxique.

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

Le transfert des graines non germées de la concentration 10g/L, 15 g/L et 20g/L dans l'eau distillée est suivi d'une reprise de la germination. Cependant, la capacité germinative reste plus faible que celle obtenue chez les graines mises directement sur le milieu témoin. (fig.16)

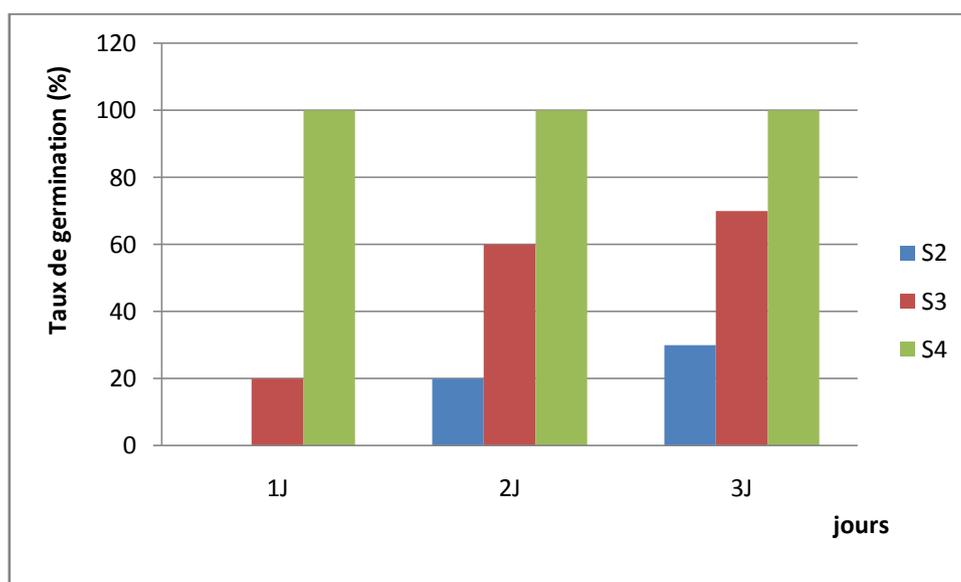


Figure16 : Réversibilité de l'action du mannitol et taux de germination

Sous trois concentrations de mannitol 10 g/L, 15g/L et 20g/L

Concernant ce paramètre, on note une reprise de germination pour les graines germées et soumises à un stress sévère (20%) dès le premier jour jusqu'au troisième jour, suivie par les graines germées soumises sous stress S3(15%), contrairement au traitement S2 (10%) on remarque une légère reprise à partir du deuxième jour.

Nos résultats sont en accord avec les travaux de (Prado et al, 2000), dans lesquels ils ont révélés que, la diminution du taux de germination est 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.

En plus de la réduction du taux de germination, le PEG6000 retarde également la germination et ralentit sa vitesse. Ce retard pourrait être du à l'altération des enzymes et des hormones qui se trouvent dans la graine. Il pourrait s'agir également d'une difficulté d'hydratation des

graines suite à un potentiel osmotique élevé entraînant une certaine inhibition des mécanismes aboutissant à la sortie de la radicule hors des téguments et par conséquent un retard de germination des graines (EL Arbi Daroui, 2012).

Deuxième essai

II. Analyse des paramètres morphologiques

1) La longueur de tige et de racine

Les résultats de l'analyse du système racinaire et aérien, sous différentes concentrations de PEG6000 et de mannitol, sont présents sur la (fig.17). En conditions de stress osmotique, la longueur des racines et des tiges est légèrement affecté. En revanche, l'effet du stress osmotique est très remarqué surtout pour les fortes concentrations 15 g/L(S3) et 20g/L(S4), plus élevé sous mannitol que le PEG6000

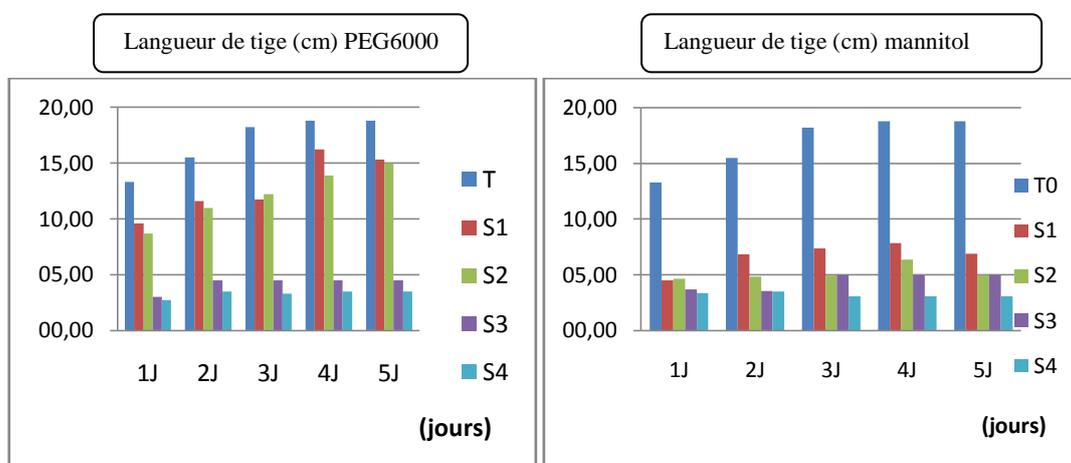


Figure17 : La longueur de la tige des plantules de la variété Waha en fonction du temps et de différentes concentrations de PEG6000 et de mannitol

L'analyse de variance pour ce paramètre et sous PEG6000 révèle un effet très hautement significatif de facteur traitement, durée et hautement significative pour l'interaction (traitement × durée) (Tab.3)

Tableau03 : Analyse de variance de longueur de tige obtenue sous différentes concentrations de PEG6000 appliqués et en fonction de la durée du stress

Source de variation	de	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Traitement		4	2151,587	537,897	854,574	< 0,0001
Durée		6	237,186	39,531	62,804	< 0,0001
Trait*Durée		20	30,631	1,532	2,433	0,006

L'analyse de variance sous le traitement mannitol révèle un effet hautement significatif de facteur traitement, durée et très hautement significative pour l'interaction (traitement × durée) (Tab.04)

Tableau04 : Analyse de variance de longueur de tige obtenue sous différents concentrations de mannitol appliqué et en fonction de la durée de stress

Source de variation	de	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Traitement		4	12,750	3,188	6,455	0,000
Durée		6	12,380	2,063	4,178	0,002
Trait*Durée		20	41,218	2,061	4,174	< 0,0001

Le test new mankeuls pour le PEG6000 classe les niveaux de stress en cinq groupes, dont la moyenne la plus faible (3.1cm, groupe A) est enregistrée pour la concentration 20g/L (S4), le deuxième groupe B représente la moyenne (4,467 cm) est enregistrée chez la concentration 15g/L (S3), le troisième groupe C représente la moyenne (12,367 cm) est enregistrée chez la concentration 10g/L (S2), le quatrième groupe D représente la moyenne (13.033 cm) est enregistrée chez la concentration 5g/L (S1) et le cinquième groupe représente le moyenne la plus élevé (17.100 cm) est enregistrée chez le témoin (Tab.05).

Tableau05: Classement des concentrations applique par le PEG6000 chez la variété étudiée selon la longueur de la tige (cm)

Modalités	Moyenne (cm)	Regroupements				
S4	3,100	A				
S3	4,467		B			
S2	12,367			C		
S1	13,033				D	
T0	17,100					E

Le test new man keuls au mannitol classe les niveaux de stress en 5 groupes (Tab.06),

Tableau06: Classement de concentrations appliquées par le mannitol chez la variété étudiée pour longueur de tige

Modalités	Moyenne	Regroupements				
S4	3.533	A				
S3	4.433		B			
S2	5,367			C		
S1	6.733				D	
T0	17.100					E

Pour la durée de PEG6000 le test Newman keuls nous donne 4 groupes, dont la moyenne la plus faible (2.500cm, affecté au groupe A) est enregistrée dans le premier jour, le deuxième groupe B représente la moyenne (7.100 cm) est enregistrée dans le deuxième jour, le troisième groupe C représente la moyenne (10.300 cm) est enregistrée dans le troisième jour, le quatrième groupe D représente deux moyennes (11.333 et 11.867 cm) sont enregistrée le quatrième et le cinquième jour(Tab.07)

Tableau07: Classement de la durée du traitement appliqué par le PEG6000 chez la variété étudiée pour longueur de tige

Modalités	Moyenne	Regroupements			
1J	2,500	A			
2J	7,100		B		
3J	10,300			C	
4J	11,333				D
5J	11,867				D

Le groupes homogènes durée de PEG6000 classe les niveaux de stress en 3 groupes, dont la moyenne la plus faible (6.700cm, groupe A) est enregistrée dans le premier jour, le deuxième groupe B représente 3 moyennes (7.867,8.333 et 8.567cm) est enregistrée dans le troisième, quatrième et le cinquième jour, le troisième groupe C représente la moyenne (11.500 cm) est enregistrée dans le jour, le quatrième groupe D représente deux moyennes (11.333 et 11.867 cm) sont enregistrée le deuxième jour (tab.08).

Tableau08: Classement des jours de traitement appliqué par le mannitol chez la variété étudiée pour longueur de tige

Modalités	Moyenne	Regroupements			
1J	6.700	A			
3J	7.867		B		
4J	8,333		B		
5J	8.567		B		
2J	11.500				C

2) Longueur de racine

Une nette augmentation de la longueur des racines de témoin est observée pour les deux traitements et pendant tout les jours (Fig.18), avec une valeur maximale de (19cm) enregistrée dans le cinquième jour et une valeur minimale de (8 cm) enregistrée dans le Premier jour. Contrairement aux plantules stressées on remarque que ce paramètre diminue en fonction de la concentration plus la concentration augmente plus la longueur de la racine diminue pour les deux osmotocums.

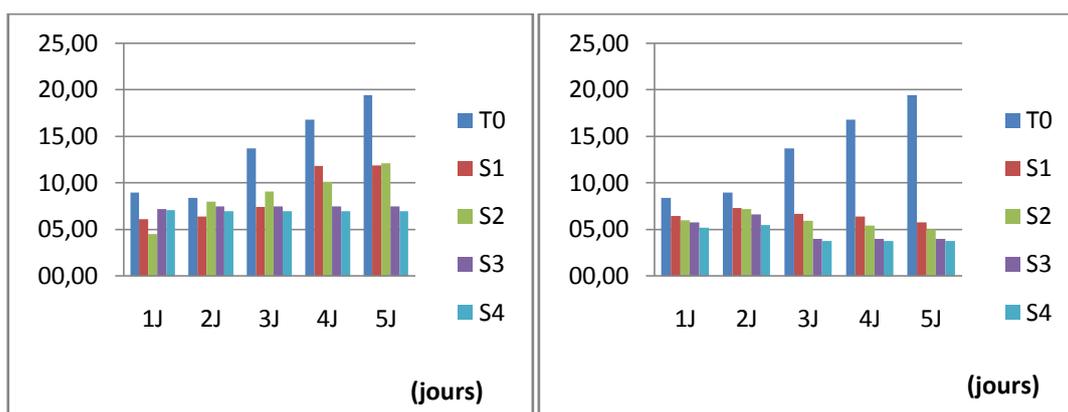


Figure18: La longueur de la racine des plantules en fonction du temps et sous différentes concentrations de PEG6000 et de mannitol

L'analyse de variance de longueur racinaire de PEG6000 fait ressortir des différences très hautement significatives pour l'effet traitement, durée et leur interaction. (tab.09)

Tableau09 : Analyse de variance de longueur de racine obtenue sous différentes concentrations de PEG6000 appliqués en fonction de la durée du stress

Source de variation	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Traitement	4	391,887	97,972	106,058	< 0,0001
Durée	6	468,229	78,038	84,479	< 0,0001
Trait*Durée	20	114,754	5,738	6,211	< 0,0001

L'analyse de variance de longueur racinaire de mannitol fait ressortir des différences non très significative pour l'effet traitement et hautement significatives pour l'effet durée et l'interaction (traitement × durée) (tab.10)

Tableau10 : Analyse de variance de longueur de racine obtenue sous différents concentrations de mannitol appliqué en fonction de la durée du stress

Source de variation	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Traitement	4	3,064	0,766	1,426	0,240
Durée	6	22,504	3,751	6,981	< 0,0001
Trait*Durée	20	165,716	8,286	15,423	< 0,0001

Le test new mankeuls au PEG6000 classe les niveaux de stress en 3groupes, dont la moyenne la plus faible (groupe A) est enregistrée chez la concentration 15g/L,20g/L (S3 ,S4), le groupe B est enregistrée chez la concentration 5g/L, 10g/L(S1,S2) , le groupe C représente la moyenne la plus élevé qui enregistrée chez le témoin (tab.11).

Tableau11: Classement des concentrations applique par le PEG6000 chez la variété étudiée pour longueur de racine

Modalités	Moyenne	Regroupements		
S3	7,333	A		
S4	7,500	A		
S2	8,867		B	
S1	9,600		B	
T0	13,633			C

Le test new mankeuls au mannitol classe les niveaux de stress en 4 groupes, dont la moyenne la plus faible (groupe A) est enregistrée chez la concentration 15g/L,20g/L (S3 ,S4), le groupe B est enregistrée chez la concentration 10g/L(S2) , le groupe C est enregistrée chez la concentration 5g/L(S1) , le groupe D représente la moyenne la plus élevé qui enregistrée chez le témoin.

Tableau12: Classement des concentrations applique par le mannitol chez la variété étudiée pour longueur de racine

Modalités	Moyenne	Regroupements			
S4	5,067	A			
S3	5,467	A			
S2	6,333		B		
S1	7,200			C	
T0	13,633				D

Le groupes homogènes durée de PEG6000 classe les niveaux de stress en 5 groupes, le groupe A représente la moyenne la plus faible qui est enregistrée dans le premier jour, le groupe B est enregistrée dans le deuxième jour, le groupe C est enregistrée dans le troisième jour, le groupe D est enregistrée dans le quatrième et le groupe E représente la moyenne la plus élevée qui est enregistrée dans le cinquième jour (tab.13).

Tableau13: Classement des jours de traitement applique par le PEG6000 chez la variété étudiée pour longueur de racine

Modalités	Moyenne	Regroupements				
1J	6,100	A				
2J	7,400		B			
3J	9,100			C		
4J	10,933				D	
5J	12,767					E

Le groupes homogènes durée de mannitol classe les niveaux de stress en 4 groupes, le groupe A représente la moyenne la plus faible qui est enregistrée dans le premier jour, le groupe B est enregistrée dans le deuxième jour, le groupe C est enregistrée dans le troisième jour, le groupe D représente les deux moyennes les plus élevées qui sont enregistrées dans le quatrième et le cinquième jour. (tab.14)

Tableau14: Classement des jours de traitement applique par le mannitol chez la variété étudiée pour longueur de racine

Modalités	Moyenne	Regroupements				
1J	4,200	A				
2J	6,000		B			
3J	7,700			C		
4J	8,433					D
5J	8,933					D

3) La biomasse totale

Les résultats de l'analyse de la biomasse totale sous différentes concentrations de PEG6000 et de mannitol, sont présentés sur la (fig.19).

En revanche, l'effet de stress osmotique est très remarqué sous concentration de PEG6000 et de mannitol surtout celles de 15 et 20 g/L par rapport au témoin qui marque des valeurs très élèves. On note aussi que l'effet du stress provoqué par le mannitol sur la biomasse est bien marqué que sous PEG6000

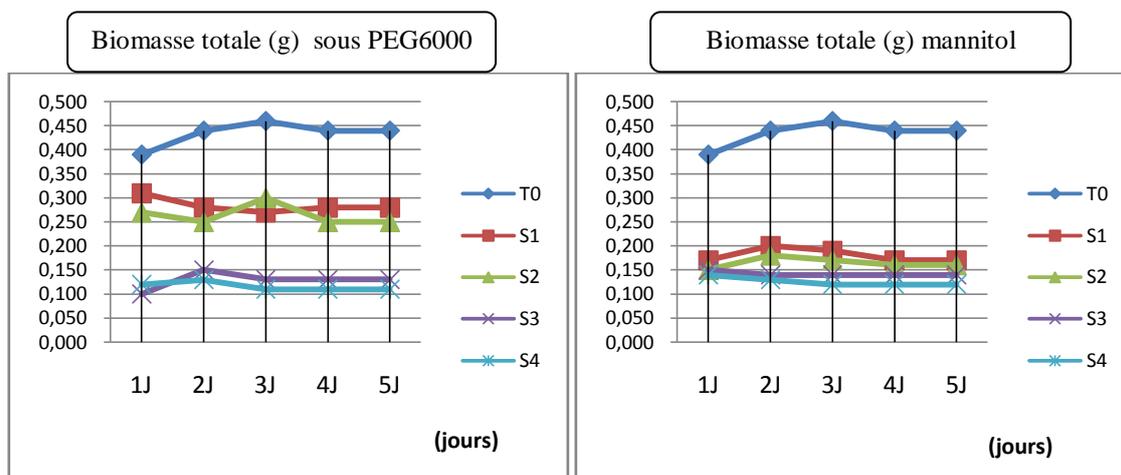


Figure19: la biomasse totale des plantules de la variété Waha en fonction du temps et sous différentes concentrations de PEG6000 et mannitol

L'analyse de variance de la biomasse totale de PEG6000 fait ressortir des différences très hautement significatives pour l'effet traitement, durée et leur interaction (tab.15).

Tableau15 : Analyse de variance de la biomasse totale obtenue sous différents concentrations de PEG 6000 appliqué et en fonction de la durée de stress

Source de la variation	Ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Traitement	4	1,245	0,311	1684,920	< 0,0001
Durée	6	0,086	0,014	77,828	< 0,0001
Trait*Durée	20	0,044	0,002	11,894	< 0,0001

L'analyse de variance de la biomasse totale de mannitol fait ressortir des différences très hautement significatives pour l'effet durée et l'interaction (traitement × durée) et hautement significatives pour l'effet traitement (tab.16).

Tableau 16 : Analyse de variance de la biomasse totale obtenue sous différents concentrations de mannitol appliqué et en fonction de la durée du stress

Source de variation	Ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Traitement	4	0,002	0,001	3,323	0,018
Durée	6	0,009	0,002	10,198	< 0,0001
Trait*Durée	20	0,049	0,002	16,252	< 0,0001

Le test new mankeuls au PEG6000 classe les niveaux de stress en 5groupes, dont la moyenne la plus faible (groupe A) est enregistrée chez la concentration 20g/L (S4), le groupe B est enregistrée chez la concentration 15g/L(S3), le groupe C enregistrée chez la concentration

10g/L (S2), le groupe D est enregistrée chez la concentration 5g/L(S1), le groupe E représente la moyenne la plus élevé qui enregistrée chez le témoin (tab.17)

Tableau17: Classement des concentrations applique par le PEG6000 chez la variété étudiée pour la biomasse totale:

Modalités	Moyenne	Regroupements				
S4	0.105	A				
S3	0.135		B			
S2	0.281			C		
S1	0.309				D	
T0	0.461					E

Le test new mankeuls au mannitol classe les niveaux de stress en 5groupes, dont la moyenne la plus faible (groupe A) est enregistrée chez la concentration 20g/L (S4), le groupe B est enregistrée chez la concentration 15g/L(S3), le groupe C enregistrée chez la concentration 10g/L (S2), le groupe D est enregistrée chez la concentration 5g/L(S1), le groupe E représente la moyenne la plus élevé qui enregistrée chez le témoin(tab.18)

Tableau18: Classement des concentrations applique par le mannitol chez la variété étudiée pour la biomasse totale

Modalités	Moyenne	Regroupements				
S4	0.124	A				
S3	0.157		B			
S2	0.182			C		
S1	0.198				D	
T0	0.461					E

Le groupes homogènes durée de PEG6000 classe les niveaux de stress en 3 groupes, le groupe A représente la moyenne la plus faible qui est enregistrée dans le premier et le troisième jour, le groupe B est enregistrée dans le quatrième et le cinquième jour, et le groupe C est enregistrée dans le deuxième jour (tab.19)

Tableau19: Classement des jours de traitement applique par le PEG6000 chez la variété étudiée pour la biomasse totale

Modalités	Moyenne	Regroupements				
3J	0.265	A				
1J	0.266	A				
4J	0.289		B			
5J	0.289		B			
2J	0.348			C		

Le groupes homogènes durée de mannitol classe les niveaux de stress en 4 groupes, le groupe A représente la moyenne la plus faible qui est enregistrée dans le premier jour, le groupe B est enregistrée dans le deuxième jour, et le groupe C est enregistrée dans le troisième jour, le groupe D est enregistrée dans le quatrième et le cinquième jour (tab.20)

Tableau20: Classement des jours de traitement applique par le mannitol chez la variété étudiée pour la biomasse totale

Modalités	Moyenne	Regroupements					
1J	0.120	A					
2J	0.155		B				
3J	0.234			C			
4J	0.249				D		
5J	0.249				D		

La diminution de la croissance de l'appareil végétatif observée peut être expliquée par une augmentation de la pression osmotique provoquée par le PEG 6000 et le mannitol, ce qui bloque l'absorption de l'eau par les racines. Les plantes s'adaptent ainsi au stress osmotique par la réduction de leur croissance afin d'éviter les dommages causés par les deux osmotocums (Zhu, J.-K. 2002).

Les résultats présentés dans cette partie, montrent que le stress osmotique réduit en générale la croissance des plantules chez la variété de blé dur Waha. Néanmoins, une grande variabilité entre les deux osmotocums a été révélée à ce stade. Les interactions très hautement significatives entre les deux effets (traitement \times durée), observées dans notre cas, montre la possibilité d'une sélection essentiellement sur la base des caractères : Longueur de la tige et de racine et la biomasse totale.

Selon (Prado et al, 2000) Sur le plan élancement de la partie souterraine, le stress osmotique affecte sérieusement la longueur des racines de variétés de blé testées.

Sous conditions de stress, l'assimilation de l'eau par la plante est directement liée au degré de développement du système racinaire (Richard et al, 2002). 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).

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 relatif en eau, et une réduction significative de la production de biomasse totale (Albouchi et al, 2000).

III. Teneur relative en eau (%)

Les teneurs relatives en eau les plus élevées sont enregistrées chez les témoins, avec une valeur maximale de 79% observé en premier jour des deux traitements (PEG6000 et mannitol) et une valeur minimale de 74% enregistré en troisième jour

En revanche, on note une diminution de la teneur relative en eau sous différentes concentrations de manque d'eau, les valeurs les plus faibles étaient notées en S4 avec une valeur minimale de (24%) enregistrée pour le troisième jour de l'ajout du mannitol.

Les TRE sous mannitol restent les plus faibles que celles de PEG6000 en fonction du temps et l'intensité du stress

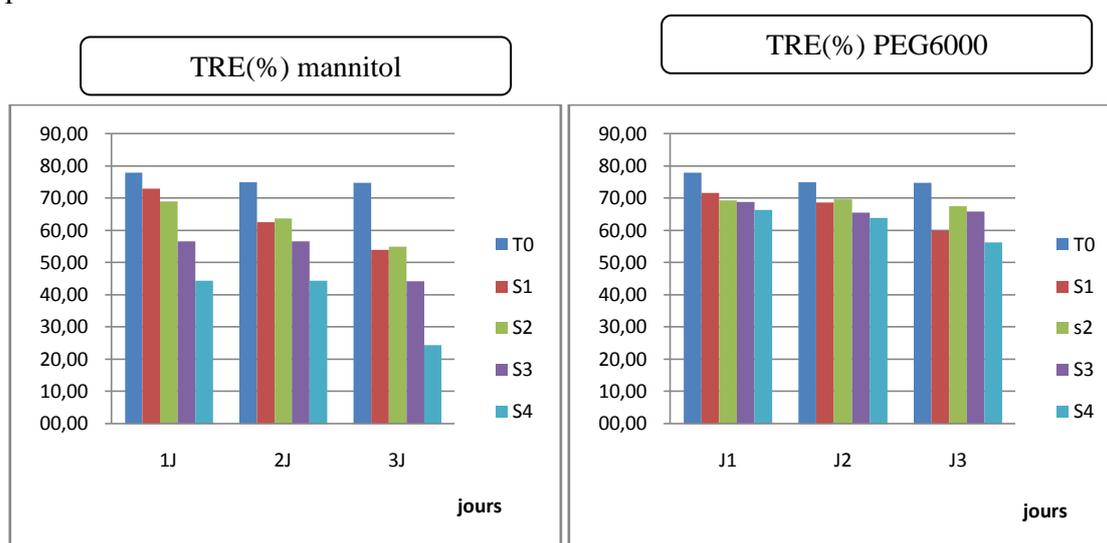


Figure20: Teneur relative en eau des feuilles des plantules de la variété Waha en fonction du temps et de différentes concentrations de PEG6000 et de mannitol

L'analyse de variance de teneur relatif en eau de PEG6000 révèle un effet très hautement significatif pour le facteur traitement, et un effet non significatif pour le facteur durée et un effet significatif pour l'interaction (traitement × durée) (tab.21).

Tableau21 : Analyse de variance de teneur relative en eau obtenue sous différents concentrations de PEG6000 appliqué en fonction de la durée du stress

Source de variation	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Traitement	4	173,632	43,408	11,721	< 0,0001
Durée	4	36,400	9,100	2,457	0,070
Trait*Durée	12	97,787	8,149	2,200	0,043

L'analyse de variance de teneur relative en eau de PEG6000 révèle un effet très hautement significatif pour le facteur traitement et le facteur durée et un effet non significatif pour l'interaction (traitement × durée) (tab.22).

Tableau22 : Analyse de variance de teneur relative en eau obtenue sous différents concentrations de mannitol appliqué et en fonction de la durée du stress

Source de variation	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Traitement	4	3525,744	881,436	243,362	< 0,0001
Durée	4	1909,030	477,257	131,769	< 0,0001
Trait*Durée	12	56,359	4,697	1,297	0,276

Le test new mankeuls au PEG6000 classe les niveaux de stress en 5groupes, dont la moyenne la plus faible (groupe A) est enregistrée chez la concentration 20g/L (S4), le groupe B est enregistrée chez la concentration 15g/L(S3), le groupe C enregistrée chez la concentration 10g/L (S2), le groupe D est enregistrée chez la concentration 5g/L(S1), le groupe E représente la moyenne la plus élevée qui est enregistrée chez le témoin (tab.23).

Tableau23: Classement des concentrations applique par le PEG6000 chez la variété étudiée pour le teneur relative en eau

Modalités	Moyenne	Regroupements				
S4	42,928	A				
S3	53,647		B			
S2	64,089			C		
S1	71,223				D	
T0	77,247					E

Le test new mankeuls au mannitol classe les niveaux de stress en 3groupes, dont la moyenne la plus faible (groupe A) est enregistrée chez les concentrations 15g/L et 20g/L (S3 etS4), le groupe B est enregistrée chez les concentrations 10g/L et 5g/L (S2 etS1), le groupe C représente la moyenne la plus élevée qui est enregistrée chez le témoin (tab.24).

Tableau24: Classement des concentrations applique par le mannitol chez la variété étudiée pour le teneur relative en eau

Modalités	Moyenne	Regroupements			
S4	54,137	A			
S3	54,608	A			
S2	67,970			B	
S1	67,970			B	
T0	77,247				C

Le groupes homogènes durée de PEG6000 classe les niveaux de stress en 2 groupes, le groupe A représente la moyenne la plus faible qui est enregistrée dans le premier jour, le groupe B représente la moyenne la plus élevé qui enregistrée dans le deuxième et le troisième jour (tab.25).

Tableau25: Classement des jours de traitement applique par le PEG6000 chez la variété étudiée pour le teneur relative en eau

Modalités	Moyenne	Regroupements		
1J	50,214	A		
2J	56,302		B	
3J	58,103		B	

Le groupes homogènes durée de mannitol classe les niveaux de stress en 4 groupes, le groupe A représente la moyenne la plus faible qui est enregistrée dans le premier jour, le groupe B est enregistrée dans le deuxième jour, et le groupe C est enregistrée dans le troisième jour, le groupe Dest enregistrée dans le quatrième et le cinquième jour (tab.26)

Tableau26: Classement des jours de traitement applique par le mannitol chez la variété étudiée pour le teneur relative en eau

Modalités	Moyenne	Regroupements			
3J	56,209	A			
2J	60,643		B		
1J	63,170		B		

Une diminution de la teneur en relative eau indique la gravite de la déshydratation, alors que l’ajustement osmotique peut échouer a maintenir la turgescence dans les tissus affectes. Il est évident que les génotypes stresses ont montre une diminution de la TRE ; cette variation génotypique pourrait être attribuées a des variations dans le contrôle stomatique de la transpiration, la capacité d’extraire l’eau par les racines (lilley and fuckai ,1994).

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 relative en eau (Albouchi et al, 2000).

IV. Analyse des protéines totales électrophorèse (SDS-PAGE)

L’analyse des protéines totales des feuilles de la variété de blé dur waha par la technique d’électrophorèse (SDS-PAGE) après avoir un stress avec une concentration de 5% ,10%,15 % et 20% du PEG 6000 et de mannitol 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 (Fig21).

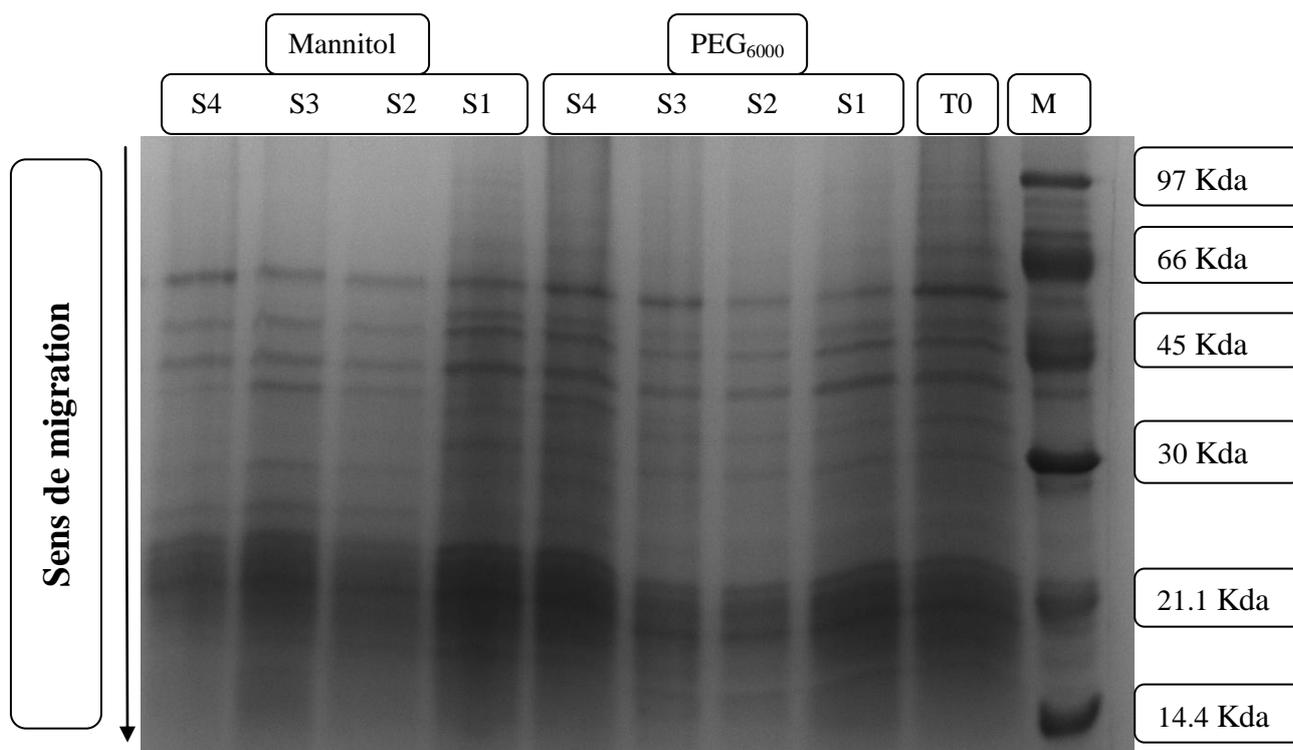


Figure21: Profil électrophorétique SDS-PAGE des protéines totales des feuilles de la variété *Waha* dans les conditions de stress appliqué par le PEG6000 et le mannitol

Tableau27 : récapitulatif du nombre de bandes révélés par électrophorèse SDS-PAGE de la variété de blé dur (*Waha*) sous l'effet de deux osmotocums appliqués (PEG6000, mannitol) et en présence de témoin pendant 1h.

traitements	Nombre de bandes		Nombre totale de bande
Témoin	12		88
PEG6000	S1	9	
	S2	8	
	S3	12	
	S4	12	
Mannitol	S1	10	
	S2	8	
	S3	8	
	S4	9	

Tableau28: Diagramme présence/absence des bandes dans les feuilles d'un seul génotype de blé dur étudié soumis au différents stress appliqué par le PEG6000 et le mannitol pendant 1h. (1 pour présence, 0 pour absence).

	PM (Kda)	Les concentrations de mannitol				Les concentrations de PEG6000				T0
		S4	S3	S2	S1	S4	S3	S2	S1	
01	95,676	0	0	0	1	0	0	0	0	0
02	93,914	0	0	0	0	0	0	0	1	0
03	93,473	0	0	0	0	0	0	0	0	1
04	80,179	0	0	0	0	1	0	0	0	0
05	75,773	0	0	0	0	0	0	0	0	1
06	70,832	0	0	0	1	0	0	0	0	0
07	69,752	0	0	0	0	0	0	0	1	0
08	68,349	0	0	0	0	1	0	0	0	1
09	65,282	0	0	0	0	0	1	0	0	0
10	62,654	0	1	0	0	0	0	0	0	0
11	61,464	1	0	0	0	0	0	0	0	0
12	60,753	0	0	1	0	0	0	0	0	0
13	60,044	0	0	0	1	0	0	0	0	0
14	59,337	0	0	0	0	1	0	0	0	0
15	59,102	0	0	0	0	0	0	0	0	1
16	57,699	0	0	0	0	0	0	0	1	0
17	56,080	0	0	0	0	0	0	1	0	0
18	55,621	0	0	0	0	0	1	0	0	0
19	54,937	0	0	0	1	0	0	0	0	0
20	52,248	0	1	0	0	1	0	0	0	0
21	52,027	1	0	0	0	0	0	0	0	0
22	51,589	0	0	1	0	0	0	0	0	1
23	50,290	0	0	0	1	0	0	0	0	0
24	50,076	0	0	0	0	0	0	0	1	0
25	48,393	0	0	0	0	1	1	0	0	0
26	47,165	0	0	0	0	0	0	0	0	1
27	46,964	0	0	0	0	0	0	0	1	0
28	45,774	0	1	0	0	0	0	0	0	0
29	45,000	1	0	0	0	0	0	0	0	0
30	44,840	0	0	0	0	0	0	1	0	0
31	44,680	0	0	0	0	0	1	0	0	0
32	44,361	0	0	1	0	0	0	0	0	0
33	42,608	0	0	0	1	0	0	0	0	0
34	42,449	0	0	0	0	1	0	0	0	0
35	41,500	0	0	0	0	0	0	0	0	1
36	40,245	0	0	0	0	0	0	0	1	0

37	39,933	1	0	0	0	0	0	0	0	0
38	39,623	0	1	0	0	0	0	0	0	0
39	39,469	0	0	0	0	0	0	1	0	0
40	39,314	0	0	1	0	0	1	0	0	0
41	38,395	0	0	0	0	1	0	0	0	0
42	37,639	0	0	0	1	0	0	0	0	0
43	35,579	0	0	0	0	0	0	0	0	1
44	33,219	0	0	0	0	0	1	0	0	0
45	32,690	1	0	0	1	0	0	0	0	0
46	32,430	0	0	0	0	0	0	1	0	0
47	31,419	0	0	0	0	0	0	0	0	1
48	31,053	0	0	0	0	1	0	0	0	0
49	30,000	0	0	0	0	0	0	0	1	0
50	29,776	0	1	0	0	0	0	0	0	0
51	29,337	0	0	1	0	0	0	0	0	0
52	29,018	0	0	0	0	0	1	0	0	0
53	28,603	1	0	0	0	0	0	0	0	0
54	28,202	0	0	0	0	0	0	1	0	0
55	27,813	0	0	0	0	1	0	0	0	0
56	26,377	0	1	0	0	0	0	0	0	0
57	25,567	1	0	0	0	0	0	0	0	0
58	25,336	0	0	1	0	0	0	0	0	0
59	24,602	0	0	0	0	1	0	0	0	0
60	23,724	1	0	0	0	0	0	0	0	0
61	22,860	0	0	1	0	0	1	0	0	0
62	22,743	0	0	0	1	0	0	0	0	0
63	22,685	0	0	0	0	1	0	0	0	0
64	22,627	0	1	0	0	0	0	0	0	0
65	22,455	0	0	0	0	0	0	0	0	1
66	21,368	0	0	0	0	0	0	0	1	0
67	21,316	1	0	0	0	0	0	0	0	0
68	21,213	0	0	1	0	0	0	0	0	0
69	20,854	0	0	0	0	0	1	0	0	0
70	20,803	0	0	0	0	0	0	1	0	0
71	19,900	0	0	0	0	0	0	0	0	1
72	18,854	0	0	0	0	0	1	0	0	0
73	18,655	0	1	0	0	0	0	0	0	0
74	18,606	0	0	0	0	0	0	1	0	0
75	18,208	0	0	0	1	0	0	0	0	0
76	18,066	0	0	0	0	1	0	0	0	0
77	17,366	0	0	0	0	0	0	0	0	1
78	16,821	0	0	0	0	0	0	0	1	0

79	15,931	0	0	0	0	0	1	0	0	0
80	15,783	0	0	0	0	0	0	1	0	0
81	14,943	0	0	0	0	0	1	0	0	0

Répétitions	T0 et S4(p)	S4(p) et S3(m)	S2(m) et T0	S4(p) et S3(p)	S2(m) et S3(p)	S4etS1(m)	S2(m) et S3(p)	Toutes les bandes
PM (Kda)	68,349	52,248	51,589	48,393	39,314	32,690	22,860	Differents taille

Le nombre total des bandes polypeptidiques est de 81 bandes (avec des PM différents), leurs poids moléculaire varient de 14.943 à 95,676 KDa.

12 bandes ont été observées chez les témoins et le S3, S4 de PEG6000, 10 bandes ont été observées chez le S1 de mannitol, 9 bandes ont été observées chez le S1 de PEG6000 et S4 de mannitol, et 8 bandes ont été observées chez le S2 de PEG6000 et mannitol et S3 de mannitol

On remarque que le nombre des bandes chez le témoin est plus élevé par rapport aux autres concentrations de PEG6000 et de mannitol sauf les S3, S4 de PEG6000 qui marque le même nombre de bandes.

Des changements dans le profil protéique (l'inhibition de certaines protéines, la surexpression de certaines d'autres 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 perspective

Conclusion et perspectives

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.

Les résultats rapportés dans cette étude montrent que le blé est une plante sensible à l'action du stress, au stade de la germination. Nos résultats montrent que le stress abiotique par l'ajout du PEG6000 et du mannitol affecte l'ensemble des paramètres étudiés.

Les résultats ont montré que les différents paramètres de germination ont été affectés par les deux osmoticums appliqués et les réponses varient selon les niveaux de stress

La capacité germinative et la vitesse de germination de la variété étudiée sont fortement touchées et elles diminuent avec l'augmentation de la concentration du PEG6000 et Mannitol ajouté. Concernant la croissance de la partie aérienne et la partie racinaire, on remarque un effet négatif du stress sur leur croissance en fonction de la durée et du stress appliqué.

Les résultats obtenus, démontrent que l'adaptation de notre variété 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 de la teneur relative en eau, de la longueur de la partie aérienne, racinaire, cette diminution est plus importante chez les plantules fortement stressées

La remarque la plus pertinente, tirée de la présente étude concerne l'effet du stress sur les protéines totales, nos résultats montrent l'apparition de nouvelles bandes sous stress sévère S3 et S4 de PEG6000 qui marque le nombre de bandes le plus élevé

On a pu remarquer une forte diminution dans les caractères morfo-physiologiques d'une part et d'autre part, une forte accumulation des protéines totales.

Par ailleurs la SDS-PAGE a révélé l'absence ou la présence de certaines protéines spécifiques à chaque traitement (PEG6000 et mannitol) et même à chaque niveau de stress. Ce qui confirme que notre variété maîtrise leurs fonctions métaboliques en fonction des conditions du milieu de culture dont le but est de tolérer la contrainte.

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

- ✓ D'utiliser plus d'une variété de blé dur pour bien déterminer l'effet de PEG et de mannitol sur des différents géotypes et pour élargir l'étude comparative
- ✓ L'étude génétique par la recherche de marqueurs moléculaires du mode de transmission et de l'héritabilité des caractères repérés, comme bons indicateurs de la tolérance au stress abiotique est nécessaire pour faciliter l'utilisation de ces caractères dans les programmes de sélection pour l'amélioration génétique.

ANNEXES

Les 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 –mercaptoéthanol 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%

Bis acrylamide à 40%	1.5ml
Eau distillée	2.15ml
1.5M Tris – HCl pH 8.8	1.5 ml
SDS à 10%	60 µl
APS à 1%	60 µl
TEMED	12 µl

Gel de concentration (stacking gel) T= 4%

Bis acrylamide à 40%	0.4 ml
Eau distillée	2.54 ml
Tris – HCl pH 6.8	1ml
SDS à 10%	40 µl
APS à 1%	20 µl
TEMED	4 µl

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

Abe H, Yamaguchi-Shinozaki K, Urao T, Iwasaki T, Hosokawa D, Shinozaki K (1997) Role of Arabidopsis MYC and MYB homologs in drought- and abscisic acid-regulated gene expression. *Plant Cell* **9**: 1859-1868.

Abeledo L.G., Savin R., Gustavo A. & Slafer., 2008. Wheat productivity in the Mediterranean Ebro Valley: Analyzing the gap between attainable and potential yield with a simulation model. *Europ. J. Agronomy*. **28**. 541-550p.

Almansouri m., kinet j.m., et lutts s., 2004. Effect of salt and osmotic stresses on germination in durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *Plant and soil*, 231: 243-254.

Anonyme (a), 2003. Le blé. [En ligne].URL [http:// technoboulangage.com/le-ble](http://technoboulangage.com/le-ble). (Date de consultation: 7 mars 2003) Atriplex et Spinacia soumises au stress salin .p 16- 29- 6 -35.

Barroco. 2005. The role of the cell cycle machinery in resumption of postembryonic development. *Plant Physiology*, 137:127-140p.

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.

Bensalem N., Benbitour Z ., (2005). «Analyse d'une stratégie de communication commerciale d'une entreprise industrielle. Cas de la Semoulerie Industrielle de la Mitidja », Mémoire licence sciences commerciales: Institut national de commerce. Alger. 95 p.

Beweley d.1997. Seed germination and dormancy. *The Plant Cell*, 9: 1055-1066.

Bhargava S et Sawant K.,(2013). Drought stress adaptation: metabolic adjustment osmotic adjustment as a function of leaf ageing in three durum wheat (*Triticum durum* Desf). Cultivars performing differently in arid conditions. 'Plant Science', 160(4), 669-681.

Bohnert HJ, Jensen RG (1996) Strategies for engineering water-stress tolerance in plants. *Trends in Biotechnology* **14**: 89-97.

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: 29-37.

Bouchoukh I., (2010). Comportement écophysiological de deux Chénopodiacées des genres hydrique en milieu hydroponique. Thèse de doctorat. Biologie forestière. INRA. 225 PP.

Boumia O. 2011. Interaction fluridone et salinité sur la germination des graines du Gombo (*Abelmoschus esculentus* L.). Mémoire de magistère. Université d'Oran.

Bousbaa R., Ykhlef N., Djekoun A.,(2009). Water use efficiency and flag leaf photosynthetic in response to water deficit of durum wheat (*Trticum durum* Desf.). *World Journal of Agricultural Sciences* 5.5.P:609-616.

Bozzini A. 1988. Origin, distribution and production of durumwheat in the world.

Chaise L., Ferla A. J., Honore A. & Moukhli R., 2005. L'impact du changement climatique sur l'agriculture en Afrique. Atelier Changement Climatique. ENPC.

Chennafi H. Aidaoui A. Bouzerzour H. Saci A., 2006. Yield response of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivar Waha to deficit irrigation under semi-arid growth conditions. *Asian Journal of Plant Science*. **5**: 854-860 pp. Conditions. *Asian Journal of Plant Sciences* **5**: 854-860p.

Clark J.M., Norvell W.A., Clark F.R. & Buckley T.W., 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.

Cochard H, Venisse JS, Barigah TS, Brunel N, Herbette S, Guilliot A, Tyree MT, Sakr S (2007) Putative role of aquaporins in variable hydraulic conductance of leaves in response to light. *Plant Physiol* **143**: 122-133.

Debiton C, 2010. Identification des critères du grain de blé (*Triticum aestivum* L.) favorables à la production de bioéthanol par l'étude d'un ensemble de cultivars et par l'analyse protéomique de lignées isogéniques waxy. Thèse. Doct. Univ, Blaise Pascal.

Drevon J.J., Saadallah K., Hajji M., Abdelly C. (2001) : "Genotypic variability for tolerance to salinity of N₂-fixing common bean (*Phaseolus vulgaris* L.)", *Agronomy*, **21**, 675-682.

Dubos C. (2001). Réponse moléculaire de jeunes plants de pin maritime soumis à un stress hydrique en milieu hydroponique. Thèse de doctorat. Biologie forestière. INRA. 225 PP.

El arbi darouia, azzouz boukroutea, nour- eddine kouddanea, abdelbasset berrichia. (2012). Effet de la salinité sur la germination et la croissance *in vitro* du *Washingtonia filifera* L. Faculté des Sciences, Département de Biologie, Université Mohamed Premier, Bd Med VI, BP 717 60.000 Oujda Maroc p36.

Fabriani G. & Lintas C. (éd). *Durum: Chemistry and Technology*. AACCC (Minnesota) Etats-Unis : 1-16 p.

Feillet. 2000. Le grain de blé : composition et utilisation. INRA. Paris.

Feldman, M., & Sears, E. R. (1981). The wild gene resources of wheat. *Sci. Am*, **244** : 98–109.

Fredot E, 2005. Connaissance des aliments. 1^{ère} édition. Lavoisier. Paris, 397p.

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.

Golldack D, Luking I, Yang O (2011) Plant tolerance to drought and salinity: stress regulating transcription factors and their functional significance in the cellular transcriptional network. *Plant Cell Rep* **30**: 1383-1391.

Guergah n., 1997. Contribution a l'étude de l'effet de la profondeur de semis sur let comportement d'un génotype de blé dur (*Triticum durum* Desf.) en pot et en plein champs dans la région d'El-Khroub. Memoire. Ing. Univ. Batna: 69p.

Haddad S., 2001. Contribution à l'étude de l'influence du nitrate du plomb sur les paramètres physiologiques et biochimiques du blé (*Triticum durum*) : thèse de magistère. Dept de Biologie. Université Annaba 128 p.

Hajlaoui H., Denden M. et Bouslama M., 2007. Etude de la variabilité intraspécifique de tolérance au stress salin du pois chiche (*Cicer arietinum* L.) au stade germination, TROPICULTURA, 2007, 25, 3, pp 168-173.

Hayden, B., (1990). Nimrods, Piscators, Pluckers and Planters: The Emergence of Food Production. *J. Anthropol. Archaeol.*, 9(1), 31.

Heller R, Esnault R et al. 2004. Physiologie végétale II, développement. Ed, Dunod, Paris. 64-240p.

Henry, Y., & De Buyser, J. (2001). L'origine des blés. In : Belin. Pour la science (Ed.). De la graine à la plante. *Ed. Belin*, Paris, pp. 69-72.

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.

Jakoby M, Weisshaar B, Droge-Laser W, Vicente-Carbajosa J, Tiedemann J, Kroj T, Parcy F (2002) bZIP transcription factors in Arabidopsis. *Trends Plant Sci* 7: 106-111.

Kader MA, Lindberg S (2010) Cytosolic calcium and pH signaling in plants under salinity stress. *Plant Signal Behav* 5: 233-238.

Karou, M., Haffid, R., Smith, D. N., & Samir, K. (1998). Roots and growth water use and water use efficiency of spring durum wheat under early-season drought. *Agronomy*, 18: 181-186.

Kotowski F., 1926. Temperature relations to germinationof vegetable seed. *Proceedings of the American Societyfor Horticultural Science* 23:176-18.

Kreps JA, Wu Y, Chang HS, Zhu T, Wang X, Harper JF (2002) Transcriptome changes for Arabidopsis in response to salt, osmotic, and cold stress. *Plant Physiol* 130: 2129-2141.

Laumont, P., & Erroux, J. (1961). Inventaire des blés durs rencontrés et cultivés en Algérie. M FEILLET P., 2000. Le grain de blé. Composition et utilisation. Mieux comprendre. INRA. ISSN: 1144-7605. émoire de la société d'histoire naturelle de l'Afrique du Nord, 5 : 94p.

Laurent b. Et ahmed b., 1991. La germination des semences en conditions sèches. *Science et changements planétaires/ sécheresse*. Vol. 2 (4): 239-249.

Liu Q, Kasuga M, Sakuma Y, Abe H, Miura S, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K (1998) Two transcription factors, DREB1 and DREB2, with an EREBP/AP2 DNA binding

domain separate two cellular signal transduction pathways in drought- and lowtemperature-responsive gene expression, respectively, in Arabidopsis. *Plant Cell* **10**: 1391- 1406.
machinery. *Eur. J. Biochem.* 271, 1835–1848pp.

Martre P, Morillon R, Barrieu F, North GB, Nobel PS, Chrispeels MJ (2002) Plasma membrane aquaporins play a significant role during recovery from water deficit. *Plant Physiol* **130**: 2101-2110.

Mazoyer m., 2002. La rousse agricole. Ed., Paris: 320-321.

Mefti, M., H. Bouzerzour, A. Abdelguerfi & H. Nouar. (2008). Morphological and growth characteristics of perennial grass cultivars grown under semi-arid conditions of the Algerian high plateaus. *Journal of Agronomy* 7:138-147.

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 Mrani Alaoui.

Munns R, James RA, Lauchli A (2006) Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *J Exp Bot* **57**: 1025-10.

Munns R, Tester M (2008) Mechanisms of salinity tolerance. *Annu Rev Plant Biol* **59**: 651-681.

Munns, R., James, R. A., Lauchli, A.,(2006). Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *J. Exp. Bot.* 27: 1025-1043.

Najdjm, B., El jaafari, S., jlibène, M., Jacquemin, J. M. (2008). Application des marqueurs moléculaires dans l'amélioration du blé tendre pour la résistance aux maladies et aux insectes. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 7: 17- 35.

Naville M, 2005. La biodiversité des espèces cultivées : Analyse dans le cas du blé, Paris: Université Paris XI, Paris, 20p.

Neffar F.,(2013). Analyse de l'expression des gènes impliqués dans la réponse au stress abiotique dans différents génotypes de blé dur (*Triticum durum*) et d'orge (*Hordeum vulgare*) soumis à la sécheresse. Thèse. Université Ferhat Abbas.Sétif.p :42-62-63.

Osborne J.M., Fox J.E.D. et Mercer S., 1993. Germination response under elevated salinities of six semi-arid blue bush species (Western Australia). In: Lieth H. & Al Masoom A. (Eds), *Towards the Rational Use of High Salinity Plants*, Vol. 1, pp. 323-338. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. p 521.

Parida AK, Das AB (2004) Effects of NaCl stress on nitrogen and phosphorous metabolism in a true mangrove *Bruguiera parviflora* grown under hydroponic culture. *J Plant Physiol* **161**: 921-928.

Perez-Alfocea F, Ghanem ME, Gomez-Cadenas A, Dodd IC (2011) Omics of root-to-shoot signaling under salt stress and water deficit. *OMICS* **15**: 893-901.
Plant Cell **14 Suppl**: S165-183.

Prado F.E., Boero C., Gallardo M., Gonzalez J.A. (2000). Effect of NaCl on germination, growth and soluble sugar content in *Chenopodium quinoa* Willd. Seeds, *Botanical Bulletin of Academia Sinica* 41. 27-34.

Prado F.E., Boero C., Gallardo M., Gonzalez J.A. (2000). Effect of NaCl on germination, growth and soluble sugar content in *Chenopodium quinoa* Willd. Seeds, *Botanical Bulletin of Academia Sinica* 41. 27-34.

Richards, R. A., Rebetzke, G. J., Condon, A. G., & Van Herwaar-Den, A. F. (2002). Breeding opportunities for increasing the efficiency of water use and crop yield in temperate cereals. *Crop Sci.* 42 :111-121.

Riechmann JL, Meyerowitz EM (1998) The AP2/EREBP family of plant transcription factors. *Biol Chem* **379**: 633-646.

Rodriguez MC, Petersen M, Mundy J (2010) Mitogen-activated protein kinase signaling in plants. *Annu Rev Plant Biol* **61**: 621-649

Ruel, T. (2006). Document sur la culture du blé, *édition Educagri*.

Scott SJ., Jones RA., Williams WA., 1984. Review of data analysis methods for seed germination. *Crop Sci.* 24:1192-1199.

Sharp RE, LeNoble ME (2002) ABA, ethylene and the control of shoot and root growth under water stress. *J Exp Bot* **53**: 33-37.

Sheen J (1996) Ca²⁺-dependent protein kinases and stress signal transduction in plants. *Science* **274**: 1900-1902.

Shewry, P. (2009). Wheat. *Journal of experimental botany*, 60 (6): 1537.

Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K (1997) Gene Expression and Signal Transduction in Water-Stress Response. *Plant Physiol* **115**: 327-334.

Soltner D, 1999. Les grandes productions végétales.19ème édition, Ed. Collection sciences et techniques agricoles, France, 464 p.

Soltner d., 1987. Les grandes productions végétales «Céréales-plante sarclées-prairies».15ème Ed. Collecton sciences et techniques agricoles. 461p.

Vinocur B et Altman A., (2005). Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: achievements and limitations. *Current opinion in biotechnology*, 16(2), 123-132.

Xiong L, Schumaker KS, Zhu JK (2002) Cell signaling during cold, drought, and salt stress.

Yokoi S, Bressan RA, Hasegawa PM (2002) Salt stress tolerance of plants. JIRCAS Working Report, vol. 2002, no. 23; PAGE.25-33.

Zhu, J.-K. 2002, Salt and drought stress signal transduction in plants. Annual review of plant biology,. 53: p. 247-273. Available on:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3128348/>.

Année universitaire : 2017/2018

Présenté par : SEDRATI NARIMENE

LAKEHAL RANDA

**Intitulé : Étude de l'influence de deux osmotocums sur la croissance des
plantules de blé dur**

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

Résumé

Ce travail consiste à tester quelques paramètres de la germination et croissance de la variété de blé dur *Waha* pour l'étude de la tolérance de cette variété à un stress osmotique par l'ajout de deux osmotocums(PEG6000 et mannitol) . deux essais ont été réalisés en chambre de culture le premier consiste à une mise à germination des graines dans des boites de Pétri en présence de différentes concentrations des deux osmotocums (0, 5, 10, 15 et 20% de PEG6000 et de mannitol). Le deuxième essai a été réalisé en culture hydroponique sous les mêmes concentrations en osmotocums. Les mesures effectuées dont les paramètres de germination et les paramètres physiologiques, morphologiques et biochimique ont montré que le stress appliqué réduit la germination et retarde sa vitesse ainsi que le stress et sa durée affectent significativement la croissance et la teneur relative en eau pour les deux types d'osmotocums avec l'apparition de nouvelles bandes de faibles poids moléculaire sous une forte concentration de stress osmotique appliqué

Mots clés : Blé, germination, PEG6000, Mannitol, tolérance, SDS PAGE.

Laboratoire de recherche : Génétique Biochimie et Biotechnologie végétale

Jury d'évaluation :

Président du jury : Pr. YKHLEF Nadia (Professeur - UFM Constantine),

Rapporteur : Mme. BOUSBA Ratiba (MCA - UFM Constantine),

Examineur : LOUALI Yamouna (MAB Constantine).

Date de soutenance : 27/06/2018