



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

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



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

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Biologie et Ecologie Végétale

قسم : البيولوجيا و علم البيئة النباتية

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologies

Spécialité : *Biotechnologie et Génomique Végétale*

Intitulé :

Accumulation de la proline et des protéines totales chez quelques variétés de blé dur
(*Triticum durum* Desf) cultivé sous condition de stress hydrique.

Présenté et soutenu par : *ATOUI Amira*

Le : 17/07/2019

FERGATI Moussab

Jury d'évaluation :

Présidente : *BOUSBA R.* (M.C.A- UFM Constantine),

Encadrant : *YKHLEF N.* (Prof. - UFM Constantine),

Examinatrice : *HAMLA C.* (M.C.B- UFM Constantine).

*Année universitaire
2018 - 2019*

Dédicace

*Je dédie ce Modest travail: A ma chère
et tendre mère Fatiha, source d'affection de courage
et d'inspiration qui a autant sacrifié pour me voir
atteindre ce jour.*

*Amon père Aissa source de respect, en témoignage
de ma profonde reconnaissance pour tout l'effort et
le soutien incessant qui m'a toujours apporté.*

A mes Jolies sœurs Nariman et Nour-hane

A mes oncles mes tantes mes grand pères

A tous mes cousins et mes cousines

A tous mes amis

*A tous mes camarades de la promotion
biotechnologie végétale.*

Dédicace

*Je dédie ce Modest travail: A ma chère
et tendre mère **SOUAD**, source d'affection de
courage et d'inspiration qui a autant sacrifié pour
me voir atteindre ce jour.*

*Amon père **SALAH** source de respect, en
témoignage de ma profonde reconnaissance pour
tout l'effort et le soutien incessant qui m'a toujours
apporté.*

*A mes adorables frères: **ABD EL NOUR** et
LOKMEN.*

*A mes Jolies sœurs: **ROUFAIDA** et **CHAIMA***

A mes oncles mes tantes mes grand parents

A tous mes cousins et mes cousines

*A tous mes amis surtout : **Mouhamed**, **Nihed**, **Sara**,
Djihane, **Ahlem**, **Feriel**, **Maroua** et **Ikram**.*

*A tous mes camarades de la promotion
biotechnologie végétale.*

AMIRA

Remerciements

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

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

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

Aussi, tous nos remerciements vont également aux membres de jury Mme, BOUSBAA Ratiba et Mlle, HAMLA Chourouk pour l'honneur qu'elle nous ont fait en acceptant de juger notre travail.

Nous voudrions aussi remercier du fond du cœur Mr. KELLOU et Mlle. MOUELLEF de nous avoir soutenues dans 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.

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

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

Résumé

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

Dans notre travail on a étudié l'effet de stress hydrique et la variabilité de la réponse chez dix génotypes de blé dur (*Triticum durum Desf*) Oued Zenati; Bidi17; Ain Lahma; Waha; Vitron; Gta Dure; Wahbi; Bni Mestina; Simeto et Cirta.

Dans la première partie, nous avons étudié quelques paramètres physiologiques et biochimiques à savoir la teneur relative en eau, la teneur en proline, le taux de la chlorophylle totale et La résistance stomatique.

Les résultats obtenus montrent que le stress hydrique a entraîné, une diminution de la teneur relative en eau et du taux de la chlorophylle totale. De même, une augmentation de la résistance stomatique et une accumulation de la proline a été enregistrée.

Dans la deuxième partie, on a analysé par SDS-PAGE les protéines totales exprimées dans les feuilles des génotypes étudiés avec ou sans stress hydrique, les profils électrophorétique obtenus nous donnent des bandes présentes aussi bien chez les témoins que chez les stressées, alors que d'autres sont présentes que chez les stressés ou absentes chez eux.

En conclusion, l'étude a montré que le stress hydrique provoque des déférents mécanismes de la réponse chez les dix génotypes mais à des degrés différents.

Mots clés : Blé dur (*Triticum durum Desf.*), déficit hydrique, proline, protéines totales, paramètres physiologiques.

ملخص

يعتبر القمح الصلب من المحاصيل الإستراتيجية في الجزائر. ومع ذلك، فإن نمو هذا المحصول وتحسين إنتاجه محدود بسبب نقص المياه ودرجة الحرارة غير المنتظمة.

في عملنا ، قمنا بدراسة تأثير الإجهاد المائي وتغير الاستجابة في عشرة اصناف وراثية من القمح القاسي (*Triticum durum Desf*) Oued Zenati; Bidi17; Ain Lahma; Waha; Vitron; Gta Dure; Wahbi; Bni Mestina; Simeto et Cirta.

في الجزء الأول ، درسنا بعض المعايير الفسيولوجية و الكيموحيوية وهي المحتوى المائي النسبي ، والمحتوى البرولين ، ومحتوى اليخضور الكلي والمقاومة الثغرية. أظهرت النتائج أن الإجهاد المائي أدى إلى انخفاض في المحتوى المائي النسبي ومحتوى اليخضور الكلي. وبالمثل ، تم تسجيل زيادة في المقاومة الثغرية وتراكم البرولين.

في الجزء الثاني ، تم تحليل البروتينات الكلية المعبر عنها في أوراق الأنماط الوراثية التي تمت دراستها مع أو بدون إجهاد مائي بواسطة SDS-PAGE ، بينت الرسوم الهندسية للهجرة الكهربية التي تم الحصول عليها وجود حزم في الشواهد وكذلك في تلك المجهد ، ثم أن الحزم الأخرى موجودين فقط في العينات تحت الاجهاد المائي في حين بعض الاخر يكون حاضر أو غائب في كل منهما.

في الختام ، أظهرت الدراسة أن الإجهاد المائي يسبب اختلاف في آليات الاستجابة في الأنماط الوراثية العشرة ولكن بدرجات مختلفة.

الكلمات المفتاحية: القمح الصلب (*Triticum durum Desf.*) ، العجز المائي ، البروتينات الكلية ، البرولين، العوامل الكيموحيوية والفيزيولوجية.

Abstract

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

In our work, we studied the effect of water stress and the variability of the response in ten durum wheat genotypes (*Triticum durum Desf.*): Oued Zenati; Bidi17; Ain Lahma; Waha; vitron; Gta Dure; Wahbi; Bni Mestina; Simeto and Cirta.

In the first part, we studied some physiological and biochemical parameters namely relative water content, proline content, total chlorophyll content and stomatal resistance. The results show that water stress resulted in a decrease in the relative water content and total chlorophyll content. Similarly, an increase in stomatal resistance and an accumulation of proline was recorded.

In the second part, the total proteins expressed in the leaves of the genotypes studied with or without water stress were analyzed by SDS-PAGE, the electrophoretic profiles obtained give us bands present in the controls as well as in the stressed ones, then that others are present only in the stressed or absent at them.

In conclusion, the study showed that water stress causes deferent mechanisms of response in the ten genotypes but to different degrees.

Key words: Durum wheat (*Triticum durum Desf.*), Water deficit, total proteins , proline, physiological parameters.

List des abréviations

Ain Lahma : AL

B17 : Bidi 17.

Bni Mestina : BM

CC : la capacité au champ.

Cirta : Cir

Do : densité optique.

FAO : Food and Agriculture Organization.

Gta Dur : GDUR

h : heure.

ITGC : Institut Technique des Grandes Cultures.

J : jours.

M : Marqueur de taille.

M².s/mol : mètre au carrée .second / mol.

mn : minute.

MS : milieu de culture de Murashige et Skoog.

nm : nanomètre.

OZ : Oued Zenati

PM : poids moléculaire.

rpm : rotation par minute.

Rs : Résistance stomatique.

s : stressés.

SDS-PAGE : Sodium Dodécylsulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis.

sec : seconde.

Simeto : Sim

SPAD : développements pour l'analyse du sol et des plantes.

T : témoin.

TCT : taux de chlorophylle totale.

TEMED : tétraméthyl-éthylène-diamine.

TRE : teneur relative en eau.

V : Vitron.

W : Waha.

Wahbi : Wbi

List des figures

Figure 01 : Carte du centre d'origine et la diffusion de la culture de <i>Triticum turgidum</i>	3
Figure 02: Phylogénie du blé dur (<i>Triticum durum</i> Desf).....	4
Figure 03 : Production mondiale de blé dur par pays en 2016 et projections en 2017.....	6
Figure 04 : Evolution de l'estimation de la production mondiale du blé dur en millions de tonnes	7
Figure 05 : La production céréalière en 2017	8
Figure 06 : Séquence de réaction au stress	10
Figure 07 : Mécanisme de réponse des plantes a la sécheresse et les caractères impliqués dans la réponse	15
Figure 08 : La mise en germination des graines étudiées.....	20
Figure 09 : Les dix variétés du blé dure à étudier, témoin et stressé	21
Figure 10: Prise de mesure de la résistance stomatique a l'aide du Porometre.....	22
Figure 11: Mise de mesure avec le Chlorophylle mètre SPAD 502.....	23
Figure 12 : Proline extrait des dix variétés étudiée.....	24
Figure 13 : Electrophorèse (BIO-RAD) des protéines totales sur gel d'acrylamide.....	26
Figure 14 : Variation de taux de la teneur relative en eau des dix génotypes de blé dure, stressés et témoins.....	29
Figure 15 : Variation de Taux de la teneur du chlorophylle totale des dix génotypes de blé ure, stressés et témoins.....	31
Figure 16 : Variation du taux de la réssistance stomatique des dix génotypes de blé dur, stressés et témoins.....	33
Figure 17: Variation de taux de l'accumulation du proline des dix génotypes de blé dure, stressés et témoins.....	35
Figure 18: Profil électrophorétique SDS-PAGE des protéines totales des feuilles des dix génotypes du blé dur soumis à un stress hydrique.....	38

List des tableaux

Tableau 01 : Classification botanique du blé dur (<i>Triticum durum Desf</i>)	5
Tableau 02 : Les génotypes étudiés et leurs origines.....	19
Tableau 03 : Diagramme présence absence des bandes dans les feuilles des dix génotypes de blé dur soumis à un stress hydrique.....	37

List des Annexes

Annexe 01 : MODE OPERATOIR : Préparation du milieu BD.....	51
Annexe 02 : Préparation des gels	52
Annexe 03 : Solutions de l'extraction des protéines totales.....	53
Annexe 04 : Tableaux d'analyse de variance à deux facteurs fixes (AV2) des paramètres étudiés.....	54

Introduction	01
--------------------	----

CHAPITRE I : Partie Bibliographique

I. Généralité sur le blé dur.....	03
I.1. Origine du blé dur.....	03
I.1.1. Origine géographique	03
I.1.2. Origine génétique.....	03
I.1.3. Classification botanique.....	05
I. 2. Importance et production du blé dur.....	05
A. Dans le contexte international.....	05
B. Dans le contexte national	07
II. Effet du stress hydrique sur le développement des plantes.....	09
II.1. Le rôle de l'eau dans la plante.....	09
II. 2. Notion du stress.....	09
II. 3. Le stress hydrique.....	10
II.3.1. Stratégies d'adaptation des plantes au stress hydrique.....	10
A. La stratégie d'esquive	11
B. La stratégie d'évitement.....	11
B.1. Adaptation morphologique.....	11
B.2. Adaptations physiologiques.....	12
C. La stratégie de tolérance	14
III. Mécanismes d'adaptation biochimique en condition de stress hydrique.....	15
III.1. Accumulation de la proline.....	15
III.2. Synthèse des protéines liées à la tolérance au stress hydrique.....	16
A. Les protéines de type LEA « Late-Embryogenesis-Abundant »	17
B. Les aquaporines.....	17
IV. Approches biotechnologiques pour l'amélioration du blé à la tolérance au stress hydrique	18

CHAPITRE II : Matériel et Méthodes

I. Matériel végétal.....	19
II. Mise en germination et disposition de l'essai	19
II.1. Pré germination des graines	19
III. Conduite et organisation des essais.....	20
IV. Préparation des pots et le semi.....	20
V. Préparation de solution BD et application de stress	21
VI. Les paramètres a étudiés.....	21
VI.1. Paramètres physiologiques	21
VI.1.1. La teneur relative en eau (TRE %)	21
VI.1.2. Mesure de la résistance stomatique (R_s $m^2.s/mol$)	22
VI.1.3. Mesure du taux de la chlorophylle totale (TCT unité de SPAD)	22

VI. 2. Paramètres biochimiques	23
VI.2.1. Dosage de la proline (Prol. µg/100mg MF)	23
VI.2.2. Electrophorèse des protéines totales	25
VI.2.3. Extraction des protéines totales	26
VII. Dépôt des échantillons et migration	27
VII.1. Révélation des gels	27
VII.2. Exploitation des résultats	27

CHAPITRE III : Résultats et Discussion

I. Paramètres physiologiques	29
I.1. La teneur relative en eau (TRE %)... ..	29
I.2. Mesure du taux de la chlorophylle totale (TCT unité de SPAD)... ..	31
I.3. La résistance stomatique.....	32
II. Paramètres Biochimiques	34
II.1. La teneur en proline.....	34
II.2. Protéines totales	36
CONCLUSION.....	40
Références bibliographiques	42
Annexes.....	51

Introduction

Les céréales constituent une part importante des ressources alimentaires de l'homme et de l'animal (Karakas et al., 2011). Parmi ces céréales, le blé dur (*Triticum durum* Desf.) compte parmi les espèces les plus anciennes.

En Algérie le blé dur (*Triticum durum* Desf.) a acquis au cours des siècles une véritable valeur symbolique, du fait de son importance dans l'agriculture et l'alimentation humaine. Son grain constitue un produit de base dans l'alimentation des algériens (couscous, le pain, la galette, le frik, et divers gâteaux...), il est considéré aussi comme une très grande ressource de protéines et d'hydrate de carbone. Il renferme également des acides aminés, des lipides et des vitamines. En outre, ses sous produits (paille) servent d'aliments pour le bétail. La paille est utilisée comme litière et comme aliment pour les animaux. (Benkolli et Bouzeghaia., 2016)

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

Cette faiblesse de la production de blé en Algérie est souvent expliquée par l'influence des mauvaises conditions climatiques (la sécheresse, la température et la salinisation des sols...). (Amrouche et Mesbah., 2017)

Les stress environnementaux, notamment le stress hydrique, limite sérieusement la croissance des plantes ainsi que la productivité végétale (Zerrad et al., 2008). Il affecte tous les aspects de croissance. Il se traduit chez la plante par une série de modifications qui touchent les caractères morpho- physiologiques, biochimiques, génétiques et même les niveaux d'expression des gènes (Bechtarzi et Bensaad., 2015), qui aident à la rétention ou à l'acquisition de l'eau et la protection des fonctions de la plante.

Pour élaborer des programmes de sélection d'espèces et de variétés de blé tolérantes au stress hydrique, il est nécessaire de mieux connaître l'effet de ces différents mécanismes sur la réponse de cette espèce dans ces conditions.

En effet, pour maintenir la balance de la force osmotique, après la chute du potentiel hydrique causée par le stress hydrique (Casals, 1996), les plantes accumulent un certain nombre d'osmotocums tel que la proline, les carbohydrates et la betaine (Wang et al., 2003) qui, en association avec d'autres facteurs tels que la réduction de la transpiration par la fermeture des stomates et la réduction de la surface foliaire (Karrou et al., 2001), permettent de garder la turgescence et le volume cytosolique aussi élevé que possible (Wang et al., 2003). Cette chute du potentiel hydrique stimule non seulement le phénomène d'osmorégulation mais également l'inhibition ou la synthèse de nouvelles protéines. (Zerrad et al., 2008)

L'objectif de ce travail est de comparer le comportement de dix variétés de blé dur sous stress hydrique ; et ceci par l'étude de quelques paramètres physiologiques et biochimiques. Notre mémoire est présenté en trois chapitres :

- Le Chapitre I représente une synthèse bibliographique sur le blé dur, le stress hydrique et les mécanismes physiologiques et biochimiques de la tolérance des plantes au stress hydrique.
- Le Chapitre II englobe l'ensemble du matériel et des méthodes utilisés pendant notre expérimentation.
- Le Chapitre III consacré a l'ensemble des différents résultats obtenus et discussions des paramètres étudiés, et finalement une conclusion et perspective suivi par une liste de références bibliographiques.

I. Généralité sur le blé dur

I.1. Origine du blé dur

I.1.1. Origine géographique

La saga du blé accompagne l'histoire de l'homme et l'agriculture (Feillet, 2000). La domestication du blé, liée à la naissance de l'agriculture, survient au proche orient, dans la région du croissant fertile « l'ouest de l'Iran, l'est de l'Irak, et le sud et l'est de la Turquie », il y a environ 10000 ans (Naville, 2005). le moyen orient est le centre géographique d'origine à partir duquel l'espèce *Triticum durum* Desf s'est différenciée dans trois centres secondaires différents qui sont : le bassin occidental de la méditerranée le sud de la Russie et le proche orient. (Cook et al., 1991)



Figure 01 : Carte du centre d'origine et la diffusion de la culture de *Triticum turgidum* (Bonjean, 2001)

I.1.2. Origine génétique

Le blé appartient à la famille des graminées (Gramineae = Poaceae), qui comprend plus de 10000 espèces différentes. Plusieurs espèces de ploïdie différentes sont regroupées

dans le genre *Triticum* qui est un exemple classique d'allo polyploïdie, dont les génomes homologues dérivent de l'hybridation inter-espèces appartenant à la même famille (Levy et Feldman, 2002). Le blé dur (*Triticum durum* Desf.) est une espèce allo tétraploïde ($2n = 28$, AABB) qui a pour origine l'hybridation suivie par un doublement chromosomique entre *Triticum Urartu* (génome AA) et une espèce voisine de l'*Aegilops*. (Feillet, 2000)

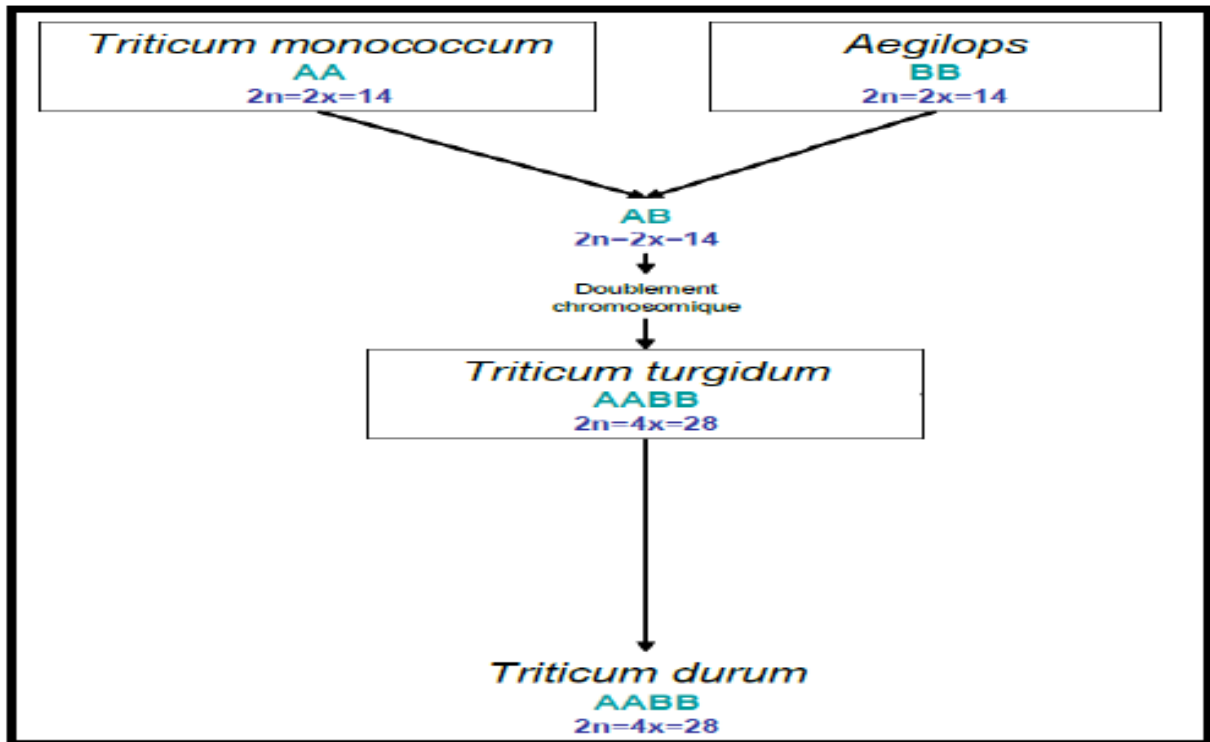


Figure 02: Phylogénie du blé dur (*Triticum durum* Desf.). (Debiton. 2010).

I.1.3. Classification botanique : Le blé dur obéit à la classification suivante (Feillet, 2000)

Le blé dur appartient au genre *Triticum* et à l'espèce *durum* (Desfontaines). Il fait donc partie du groupe des espèces tétraploïdes ($2n = 28$).

D'une façon générale, le blé dur se caractérise par :

- un épi à rachis solide, à glumes carénées jusqu'à leur base, à glumelle inférieure terminée par une longue barbe colorée;
- un grain très gros (45-60 mg), de section subtriangulaire, très riche en albumen, de texture vitreuse;
- un appareil végétatif à tallage faible (souvent un seul épi par plante), à chaume long et souple, sensible à la verse.

Tableau 01 : Classification botanique du blé dur (*Triticum durum* Desf)

Régne	Taxonomie
Embranchement	Angiospermes
Sous embranchement	Spermaphytes
Classe	Monocotylédones
Ordre	Glumiflorale
Famille	Gramineae
Genre	<i>Triticum</i>
Espèce	<i>Triticum durum</i> Desf

I. 2. Importance et production du blé dur

Les grains de blé dur donnent de la semoule pendant la mouture, cette semoule est valorisée dans la fabrication des pâtes alimentaires. De plus en Afrique du Nord, on utilise aussi cette céréale pour la production de couscous, plat traditionnel et des pains traditionnels (la galette). Il est utilisé pour préparer les chappattis dans le sous-continent indien et tortillas en Amérique Central et du Sud. La paille est utilisée comme litière et comme aliment pour les animaux. (Zouaoui, 2016)

A. Dans le contexte international

Le blé en général est la première céréale cultivée au monde. Les superficies cultivées à travers les continents se mesurent en millions d'hectares et les récoltes en millions de tonnes.

Le classement de l'année 2016 des principaux pays producteurs du blé dur indique que l'UE est toujours en première position, le Canada en deuxième position alors que les Etats unis se situent en sixième position après le Mexique. (Anonyme, 2017)

L'UE et le continent américain sont excédentaires en blé, ce qui leur confère un avantage économique et géopolitique indéniable. Au contraire, l'Asie et l'Afrique apparaissent déficitaires, ce qui renforce leur dépendance à l'égard des grands pays exportateurs.

Le marché mondial du blé dur est segmenté en différents groupes de pays qui ont diverses capacités de production et de consommation de blé, ce qui rend ce marché plus propice à la volatilité des prix. Seulement 19% de la production mondiale du blé est échangée et il s'agit d'un marché de surplus et d'excédent. (Ansart, 2017)

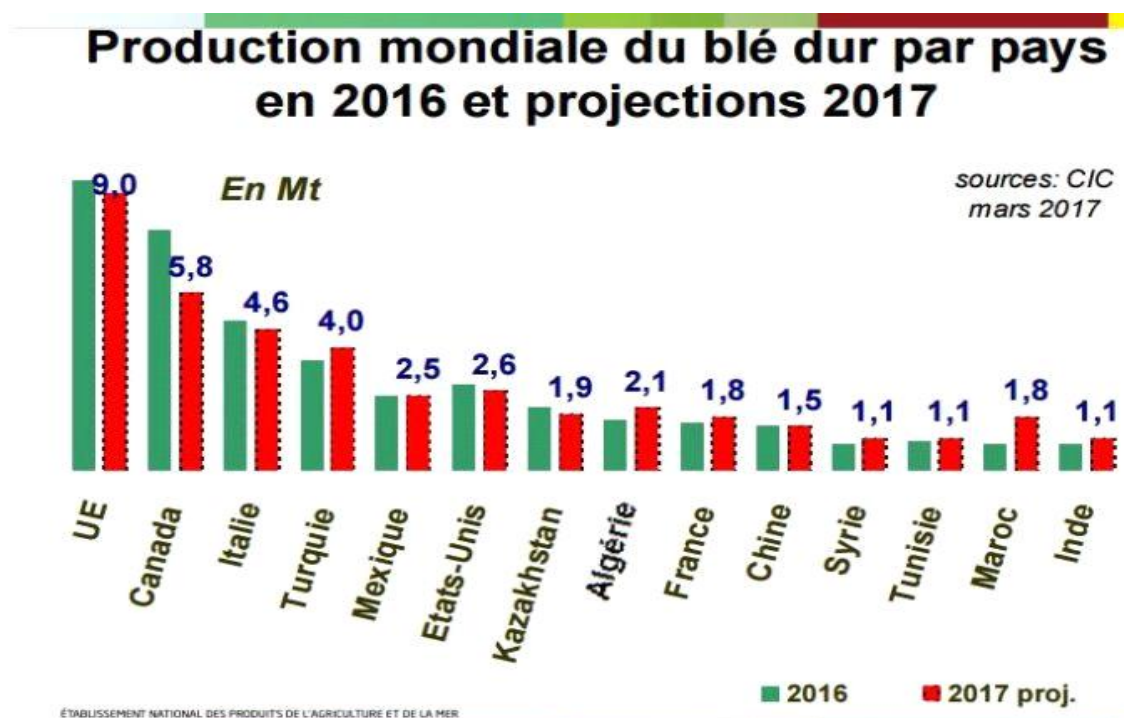


Figure 03 : Production mondiale de blé dur par pays en 2016 et projections en 2017 (Conseil International des Céréales, 2017).

La production mondiale de blé pour la campagne 2016/2017 atteindrait 753 millions de tonnes selon la FAO, soit 23.592 kilos par seconde (compteur) une récolte un peu en baisse à cause de rendements moins importants que prévu dans l'Union européenne et en Russie.

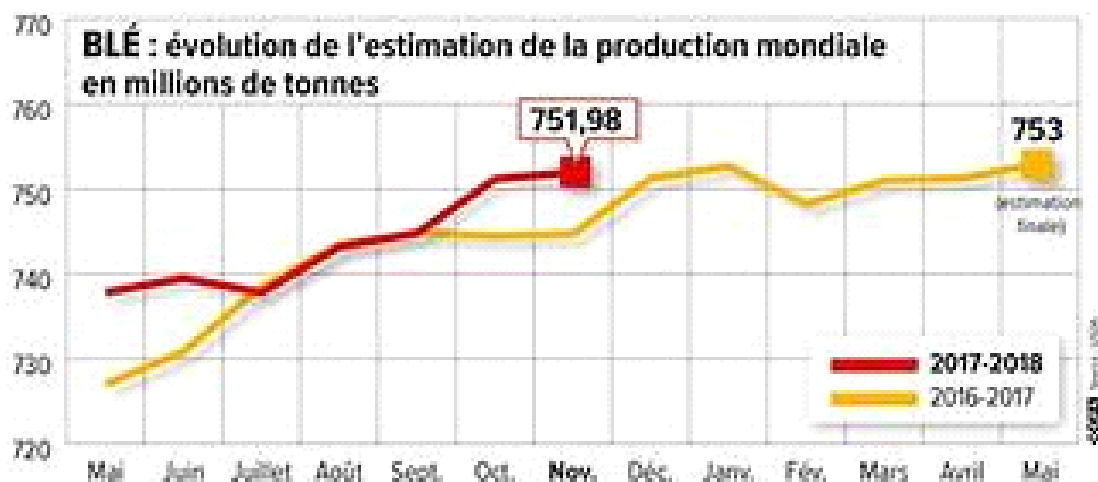


Figure 04 : Evolution de l'estimation de la production mondiale du blé dur en millions de tonnes (Le Ministère Américain de l'Agriculture (USDA), 2017).

Pour satisfaire la demande de l'humanité, selon la FAO, il faut augmenter d'au moins 60 % la quantité des produits agricoles disponibles, entre 2005 et 2050. (Gallais, 2015)

B. Dans le contexte national

Dans le monde les céréales constituent la composante de base de l'agriculture. Selon le centre international du commerce en 2017, la production mondiale du blé a atteint 735 Mt contre 752 Mt en 2016. Les perspectives pour la production mondiale du blé en 2017-2078 restent la plupart du temps bonnes avec une légère baisse de 2,7% par rapport à l'an passé. (FAO, 2017)

La superficie totale de l'Algérie est de 238 174 100 hectares dont 4/5 sont occupés par le Sahara. La surface agricole utile est de 7.14 millions d'hectares, dont près de la moitié est laissée en jachère chaque campagne. Les cultures herbacées couvrent 3.8 millions hectares, la céréaliculture consiste la principale activité, notamment dans les zones arides et semi-arides. Les terres annuellement emblavées représentent 50.42% des terres labourées. (Kadi et al., 2010)

La production nationale en blé dur est encore faible, elle ne couvre que 20 à 25% des besoins du pays, le reste étant importé. Au niveau national, la culture du blé souffre encore de plusieurs carences techniques. En effet, le potentiel génétique des variétés cultivées actuellement au niveau national n'est exploité qu'à 30 ou à 40%. (Hamadache *et al.*, 2002)

Chapitre I : Revue Bibliographique

La production nationale de blé devrait connaître une excellente hausse en 2018. Dans son rapport mensuel sur les produits agricoles dans le monde, le service agricole de l'étranger du ministère américain de l'Agriculture (USDA), a anticipé une production record de blé en Afrique du Nord-Ouest notamment pour l'Algérie, la Tunisie et le Maroc, pour la campagne 2018/2019, qui serait de l'ordre de 12,5 millions de tonnes métriques (mmt) avec une hausse de 17% par rapport à 2017 et de 30% au-dessus de la moyenne quinquennale.

Ainsi, pour l'Algérie, la production de blé pour la saison 2018/19 est estimée à 3,0 mmt, en hausse de 0,6 million par rapport à 2017/18. Cette perspective favorable est due principalement aux précipitations abondantes au niveau des régions de l'Est, l'Ouest et le Centre du pays. (Nadjoua, 2018)

Les variations de la pluviométrie contribuent jusqu'à 50% à la différence des rendements d'une année à l'autre, et où la céréaliculture est difficilement substituable nous pouvons confirmer que la culture du blé en Algérie est fortement tributaire des eaux de pluie.

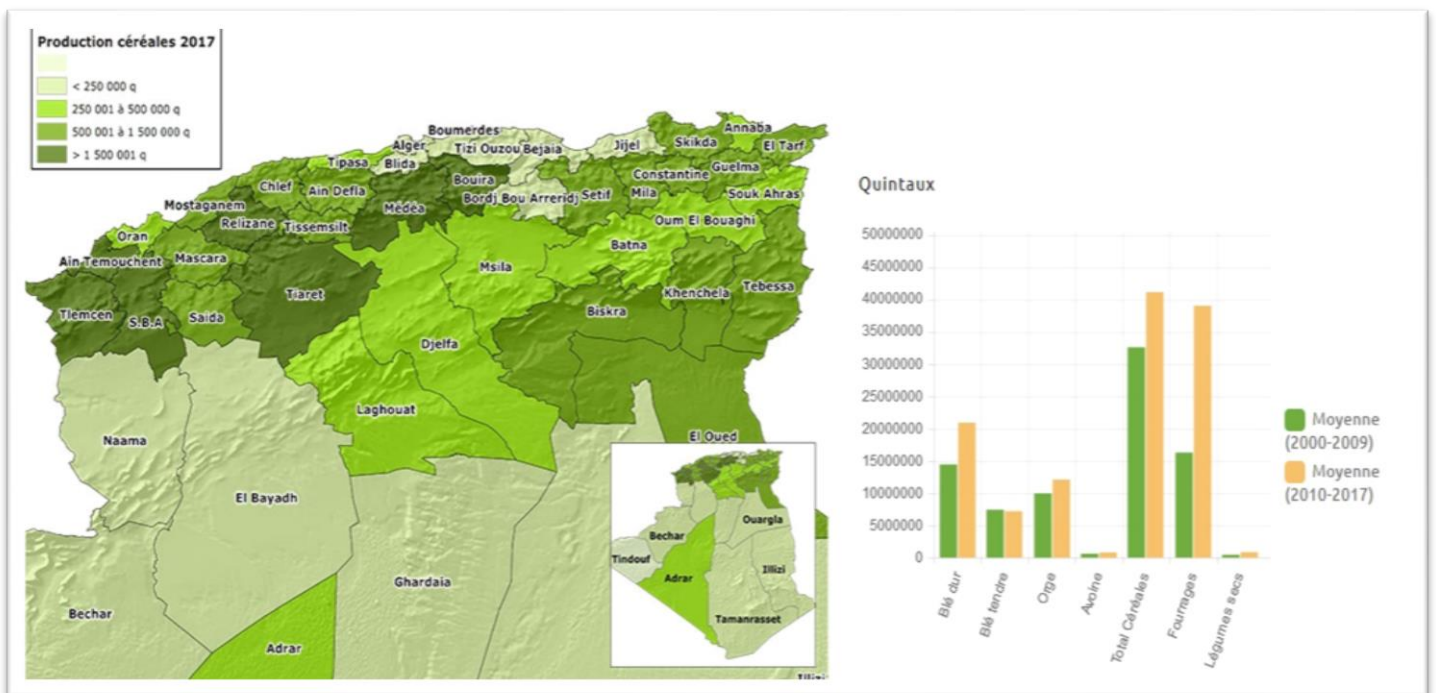


Figure 05 : La production céréalière en 2017 (Anonyme, 2017)

II. Effet du stress hydrique sur le développement des plantes

II.1. Le rôle de l'eau dans la plante

L'eau a un rôle fondamental dans la vie des plantes. Dans la mesure où elle conditionne leurs activités physiologiques et métaboliques. Elle est le vecteur des éléments nutritifs de la plante (Riou, 1993). Les rôles multiples assurés par l'eau au sein des plantes font le premier facteur limitant leur fonctionnement. Parmi ces rôles nous pouvons citer. (Laberche, 2004)

- l'eau contribue au maintien de la structure de la cellule et en particulier de la structure colloïdale du cytoplasme.
- elle intervient dans les réactions métaboliques comme l'hydrolyse ou la photosynthèse, elle est donc en ce sens un aliment pour le végétale.
- elle véhicule les nutriments minéraux et les produits du métabolisme.
- par son rejet dans l'atmosphère sous forme de vapeur, elle emprunte à la plante sa chaleur latente de vaporisation. Elle permet à celle-ci de supporter les rayonnements solaires et les divers échauffements climatiques.

La richesse en eau des plantes est variable selon les espèces, les organes et les milieux de vie. En effet, une salade peut contenir 90 à 93 % d'eau, une feuille est composée souvent de 80 à 90 % d'eau et le bois fraîchement coupé peut renferme 30 à 50 % d'eau (Leclerc, 1999). Il faut 1500 litres pour obtenir 1kg de blé, 500 litres d'eau pour 1kg de maïs et 4500litres d'eau pour 1kg de riz. (Bernard, 2006)

Un manque d'eau au niveau du sol peut affecter le contenu en eau de feuille, le transport et l'accumulation des éléments nutritifs et par la même la croissance des plantes cultivées annuelles. (Nana et *al.*, 2010)

II.2. Notion du stress

Le stress est l'ensemble des perturbations physiologiques ou pathologiques provoqués dans l'organisme par des agents biotiques (parasite, pathogène) ou abiotiques (salinité, sécheresse, température, pollution..etc) (Maarouf et Raynaud,2007). Naturellement, les plantes doivent donc s'adapter pour faire face à des agressions biotiques et abiotiques (Ishida et *al.*,2008). Parmi les contraintes environnementale, on peut distinguer suivant leur nature plusieurs types de stress.

Les stress abiotiques induisent des changements physiologiques et des changements dans les processus cellulaires. Ils engendrent généralement une perturbation du potentiel hydrique chez les plantes compensée par une fermeture des stomates, suite à une perte de turgescence dans les cellules de garde, ou une diminution de la pression osmotique cellulaire. (Benghersallah, 2015)

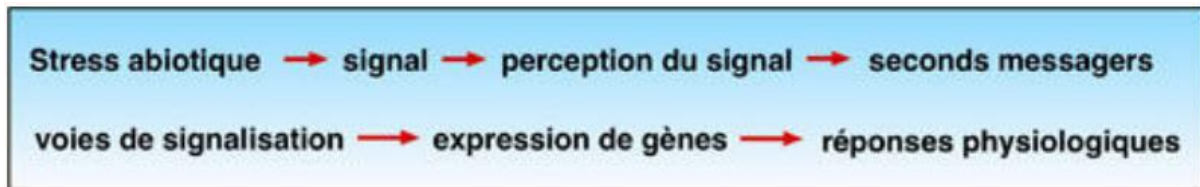


Figure 06 : Séquence de réaction au stress (Laurent *et al.*, 1991)

Les tissus doivent alors mettre en place plusieurs mécanismes d'adaptation afin de limiter les dégâts engendrés par le stress. (Verslues *et al.*, 2006)

II.3. Le stress hydrique

Le déficit hydrique est une contrainte permanente de la production agricole dans de nombreux pays au climat de type méditerranéen. Elle est à l'origine des pertes de production agricole dans de nombreuses régions. Les risques du manque d'eau sont et deviendront de plus en plus fréquents et persistants, à l'avenir, par suite des changements climatiques causés par l'effet de serre. (Witcombe *et al.*, 2009)

Le manque d'eau ou déficit hydrique représente le stress abiotique le plus sévère auquel la culture du blé dur fait face dans les conditions de production des zones arides et semi-arides (Chenaffi *et al.*, 2006). Ce stress se traduit par une série de modifications qui touchent les caractères morphologiques, physiologiques et biochimiques, à partir du moment où les besoins en eau de la plante sont supérieurs aux quantités disponibles. (Mefti *et al.*, 2000)

II.3.1. Stratégies d'adaptation des plantes au stress hydrique

Pour lutter contre le manque d'eau, les plantes développent plusieurs stratégies adaptatives qui varient en fonction de l'espèce et des conditions du milieu (esquive, évitement et tolérance). (Turner, 1986)

A. La stratégie d'esquive :

Cette stratégie consiste à éviter de subir le déficit hydrique en effectuant le cycle de développement pendant des périodes pluvieuses. On réduit alors le risque de perte de rendement, en échange d'une réduction du rendement maximum atteignable (Jean-pierre et *al.*, 2006). Le décalage du cycle cultural depuis des périodes à forte demande climatique vers des périodes à plus faible risque est la stratégie des cultures d'hiver, qui réalisent leur cycle sur une période à faible risque de déficit hydrique et compensent une croissance à une saison où le rayonnement incident est réduit par une durée plus longue du cycle. (Folkert et *al.*, 2001)

B. La stratégie d'évitement

Cette stratégie consiste à empêcher que la plante soumise à des conditions hydriques défavorables ne subisse un stress hydrique trop important. Ces adaptations réduisent le risque de perte de rendement, mais ont le plus souvent un coût en terme de rendement maximum (Jean-pierre et *al.*, 2006). Les mécanismes d'évitement sont de type morphologique et physiologique.

B.1. Adaptation morphologique

L'effet du stress hydrique peut se traduire, selon la stratégie adaptative de chaque espèce ou génotype, par des modifications morphologiques pour augmenter l'absorption d'eau et pour diminuer la transpiration et la compétition entre les organes pour les assimilés, ces modifications affectent la partie aérienne ou souterraine. (Bajji, 1999)

- **Système racinaire**

Un système racinaire capable d'extraire l'eau du sol est un trait essentiel pour la résistance à la sécheresse (Subbarao *et al.*, 1995). Les cultivars de blé à système racinaire extensif peuvent exploiter un grand volume de sol, absorber une grande quantité d'eau et avoir un rendement considérable.

- **Surface foliaire**

La diminution de la surface de la feuille sous stress hydrique est considérée comme une réaction de résistance moyenne ou d'adaptation au manque d'eau (Blum, 1996). Un autre type d'adaptation foliaire développé par la plante face à un manque d'eau est l'enroulement de

la feuille qui peut être considéré comme un indicateur de perte de turgescence en même temps qu'un caractère d'évitement de la déshydratation (Amokrane *et al.*, 2002). L'enroulement des feuilles entraîne une diminution de 40 à 60% de la transpiration.

- **Longueur des barbes**

La longueur des barbes est un paramètre morphologique qui semble être étroitement lié à la tolérance au déficit hydrique terminal, tout au moins chez le blé dur. Slama (2002) mentionne que la variété ayant la barbe la plus développée, sous contrainte hydrique présente le meilleur rendement. En plus, la présence des barbes augmente l'efficacité d'utilisation de l'eau et l'élaboration de la matière sèche lors de la phase de maturation du grain (Nemmar, 1980). Lors de la phase du remplissage des grains, La photosynthèse est moins sensible à l'action inhibitrice des hautes températures chez les génotypes barbus comparativement aux génotypes glabres. (Fokar *et al.*, 1998)

B.2. Adaptations physiologiques

- **État hydrique de la plante**

La diminution du potentiel hydrique du sol en conditions de sécheresse provoque une perte importante de la turgescence au niveau de la plante (Henchi, 1987). L'augmentation de la production, dans ces conditions, dépend des mécanismes de tolérance qui assurent l'hydratation cellulaire et diminuent la perte en eau en maintenant un statut hydrique favorable au développement foliaire. Le maintien d'un potentiel hydrique élevé est lié à l'aptitude à extraire l'eau du sol et à la capacité à limiter les pertes d'eau par transpiration. (Slama, 2002)

- **Fonctionnement stomatique**

La réduction de la perte en eau par la fermeture stomatique est un moyen d'adaptation des plantes à la sécheresse. Cette diminution de la transpiration peut engendrer une réduction de la photosynthèse. Ainsi, les génotypes qui ont la capacité photosynthétique intrinsèque la moins affectée par le déficit hydrique présentent une efficacité de l'utilisation de l'eau (photosynthèse/transpiration) plus élevée et une plus grande capacité de survie (Araus *et al.*, 1989). En agronomie de production, l'utilisation efficace de l'eau est le critère le plus utilisé pour évaluer tout apport d'eau. Ce paramètre est défini par le ratio de la matière sèche produite sur la quantité d'eau consommée (Bamouh *et al.*, 2000). L'augmentation du nombre

de stomates par unité de surface pourrait être un des facteurs de résistance au déficit hydrique chez les céréales si elle est accompagnée par une bonne activité physiologique (Slama, 2002). L'accroissement de la densité stomatique peut augmenter l'assimilation nette du CO₂ et diminuer la perte en eau. En effet, un nombre élevé de stomates peut engendrer des stomates de petite taille et à fermeture rapide.

La régulation de l'état hydrique des parties aériennes de la plante par la fermeture des stomates est notamment déclenchée par un signal chimique racinaire, la molécule signal est une phytohormone, l'acide abscissique (ABA), synthétisé par les racines soumises à un stress hydrique et qui est véhiculé jusqu'aux feuilles par la sève brute (Djekoun et Ykhlef, 1996). Cette régulation diffère d'ailleurs selon les espèces, leur capacité à maintenir un état hydrique presque constant étant variable. Par exemple, elle est bonne chez le maïs et le pois et moins chez le tournesol. Si la fermeture des stomates permet à la plante de réduire la sortie d'eau, elle limite aussi l'entrée de CO₂ et donc la production de biomasse. (Djekoun et Ykhlef, 1996)

D'après (Tardieu et Simonneau, 1998) on peut classer les plantes en deux groupes :

- Les plantes dites isohydriques : comme le maïs, ferment rapidement leurs stomates lors d'un déficit hydrique. Ceci conduit à une économie de l'eau du sol disponible, mais entraîne une baisse précoce de la photosynthèse.
- Les plantes dites anisohydriques : comme le tournesol, maintiennent tardivement leurs stomates ouverts. L'état hydrique des tissus de ces plantes tend à suivre celui du sol lorsque ce dernier se dessèche.

- **La teneur relative en eau de la feuille**

La teneur relative en eau correspond à une signification physiologique directe de l'état hydrique du végétal (Collinson et al., 1997). C'est un paramètre physiologique indicateur de la résistance des espèces vis-à-vis d'un stress hydrique (Berka et Aïd, 2009). Le maintien d'un potentiel hydrique élevé est lié à l'aptitude à extraire l'eau du sol et à la capacité à limiter les pertes d'eau par transpiration. (Turner, 1986)

Les géotypes qui maintiennent leur TRE élevée lors du stress hydrique seront probablement les plus tolérants et seront les plus productifs (Sassi et al., 2012). Benmahammed et al., (2008) notent que la corrélation positive entre la teneur relative en eau et la biomasse accumulée indique, qu'en général, l'accumulation de la biomasse sous stress est dépendante du contenu foliaire en eau. (Salmi, 2018)

- **La teneur en chlorophylle**

La diminution de la photosynthèse, qui fait suite à la réduction de la teneur relative en eau et du potentiel hydrique foliaire, est causée par la réduction de la pénétration du CO₂. La diminution de la photosynthèse nette peut être attribuée à la diminution de la concentration interne du CO₂ sans que la capacité photosynthétique des tissus de la feuille ne soit endommagée (El-jaafari et Paul, 1993). Bousba et al., (2009) indiquent qu'une diminution de la teneur en chlorophylle est remarquée chez le blé dur sous stress hydrique. Tahri et al., (1997) montrent que l'augmentation de la teneur en proline foliaire sous l'effet du stress suivie par un abaissement dans les teneurs en pigments chlorophylliens totaux (Chlorophylles a et b). Ainsi la variété qui accumule plus de proline est aussi celle qui connaît la plus forte diminution de ses teneurs en pigments chlorophylliens et vice versa. (Tahri et al., 1997)

C. La stratégie de tolérance :

Cette stratégie consiste à maintenir les fonctions de la plante, croissance, transpiration et la photosynthèse, malgré le déficit hydrique (Jean-pierre *et al.*, 2006). La tolérance à la déshydratation implique des mécanismes intracellulaires qui visent à préserver l'intégrité structurale et fonctionnelle des tissus lorsque le potentiel hydrique diminue. (Laurent et Sané, 2007)

- **Ajustement osmotique**

De nombreuses plantes réagissent au stress hydrique par une diminution du potentiel osmotique, provoqué par l'accumulation de soluté. Ce processus est appelé ajustement osmotique. Cette réponse permet éventuellement de maintenir la turgescence foliaire à une valeur positive, en dépit d'un abaissement du potentiel hydrique du milieu. L'ajustement osmotique est réalisé grâce à une accumulation des solutés principalement vacuolaire conduisant à un maintien du potentiel de turgescence.

L'accumulation des solutés dans le cytoplasme permet à la plante de maintenir sa turgescence et d'éviter la déshydratation. Les solutés responsables de l'osmo-régulation sont essentiellement des acides organiques, des acides aminés et des sucres. Certains constituants inorganiques peuvent être présentes tel que : les nitrates et le potassium. Parmi les acides aminés : la proline, qui accumulée pourrait jouer un rôle d'osmoticum. Elle pourrait, également, intervenir dans la régulation du pH cytoplasmique ou constituer une réserve d'azote utilisée par la plante postérieurement à la période du stress. L'ajustement osmotique

apparaît donc comme un mécanisme majeur d'adaptation à la sécheresse : il permet le maintien de nombreuses fonctions physiologiques (photosynthèse, transpiration, croissance...) ; il peut intervenir à tous les stades du développement et son caractère inductible suggère qu'il n'a pas (ou peu) d'incidence sur le rendement potentiel. (Semcheddine, 2015)



Figure 07 : Mécanisme de réponse des plantes à la sécheresse et les caractères impliqués dans la réponse (De leonardis et *al.*, 2010)

III. Mécanisme d'adaptation biochimique en condition de stress hydrique

III.1. Accumulation de la proline

Parmi les acides aminés pouvant être accumulés, la proline représente des manifestations les plus remarquables des stress hydriques et osmotiques. Singh et *al.*, (1973) proposent d'utiliser la proline comme critère de sélection pour la tolérance au stress chez l'orge. La proline est l'un des solutés compatibles le plus fréquemment accumulé en réponse à des contraintes environnementales variées et joue un rôle important dans la tolérance des plantes. (Ben Rejeb et *al.*, 2012)

L'accumulation de proline est l'une des stratégies adaptatives fréquemment observées chez les plantes pour limiter les effets du stress hydrique. Elle est liée à l'osmorégulation

cytoplasmique (Acevedo et *al.*, 1989). Selon Tahri et *al.*, (1997) l'accumulation de la proline induite par les stress, peut être le résultat de trois processus complémentaires: stimulation de sa synthèse, inhibition de son oxydation et/ou altération de la biosynthèse des protéines. La proline est synthétisée selon deux voies distinctes, via le glutamate et l'ornithine (Neffar, 2013). La chaîne de réaction commence par la réduction du glutamate en glutamyl-5-semialdéhyde. Ce composé se cyclise spontanément et forme l'acide pyrroline-5-carboxylique qui est réduit ensuite en proline.

La proline peut être issue aussi de l'ornithine, précurseur de l'acide pyrroline-2-carboxylique, transformé ensuite en proline (Jean-François et Morot-Gaudry, 1997). Son accumulation dans les feuilles de plantes qui souffrent d'un manque d'eau a été décrite très anciennement (Cornic, 2008). On pense que l'accumulation se fait dans le cytoplasme où sa concentration atteint parfois 230 à 250 mM. Elle peut à cette concentration participer effectivement à l'ajustement osmotique de la plante. (Samars et *al.*, 1995)

Un déficit hydrique plus grave amplifie davantage l'accumulation de la proline dans les tissus foliaires, atteignant pratiquement le double de celle du témoin (757,15 contre 345,72 µg / 100 mg feuilles, soit 119,01 % d'augmentation) (Hireche, 2006). Outre son rôle osmotique, la proline semble aussi avoir un rôle dans l'enroulement foliaire, constituant un mécanisme de limitation de la transpiration chez les céréales, qui serait lié à l'accumulation d'acide abscissique (ABA) au niveau des feuilles. Elle pourrait en outre jouer plusieurs rôles dans le métabolisme intracellulaire, dans la protection des membranes et des systèmes enzymatiques, et favoriserait la reprise après réhydratation (Lepoivre, 2003). Plusieurs sélectionneurs et physiologistes ont utilisé la capacité de son accumulation dans le criblage de géotypes résistants au déficit hydrique sur le blé dur.

III.2. Synthèse des protéines liées à la tolérance au stress hydrique

Les protéines de stress jouent un rôle dans l'adaptation de la plante et de ce fait de nombreux chercheurs abordent la résistance au stress par l'isolement et l'étude de ces molécules (Campalans et *al.*, 1999). On écrit qu'une partie des protéines induites ont une fonction directe dans l'augmentation de la tolérance au stress (protéines fonctionnelles), d'autres ont une fonction dans la chaîne de transduction (protéines régulatrices) qui aboutissent à la production de protéines fonctionnelles. La plupart des protéines à fonction directe sont des aquaporines et des enzymes catalysant la biosynthèse d'osmolytes (carbohydrate et acides aminés).

III.2.A. Les protéines de type LEA « Late-Embryogenesis-Abundant » :

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

Les Late-Embryogenesis-Abundant protéines (LEA) sont un groupe de protéines à faible poids moléculaire (10-30 kDa) riches en Glycine et Lysine (Shao et al., 2005). En réponse à la déshydratation, les LEA sont produites en abondance dans les dernières phases de développement des graines. (Nylander et al., 2001)

En particulier dans le cas de déshydratation ou de stress induit par le froid. Basé sur les motifs de leurs protéines correspondantes, elles ont été classifiées en au moins six différents groupes. La caractéristique unitaire des protéines LEA est, chez les plantes, leur accumulation liée au développement, des stress environnementaux (froid, forte concentration saline, dessiccation) ou la présence d'ABA (Wise, 2003). Ces protéines pourraient protéger les structures cellulaires contre les effets d'une perte d'eau en fonctionnant comme un tampon d'hydratation, par isolation d'ions, ou par protection directe des autres protéines ou membranes. (Guy, 2003)

Différents gènes qui codent pour les LEA sont impliqués dans la tolérance au stress hydrique chez le blé dur. (Rampino et al., 2006)

III.2.B. Les aquaporines

Les plantes équilibrent leur état hydrique en ajustant la conductibilité de l'eau de leurs tissus, les tissus vasculaires et les cellules de garde jouent un rôle important dans ce processus. Les aquaporines sont un composant significatif dans le transport cellulaire de l'eau. Elles peuvent réguler la conductivité hydraulique et de 10 à 20 fois la perméabilité à l'eau des membranes.

L'expression et l'activité des aquaporines sont modulées par la déshydratation. Smart et al., (2001) ont montré que la répression de gènes d'aquaporines diminue la perméabilité à l'eau des membranes et peut conduire à la conservation cellulaire de l'eau pendant des périodes de contrainte hydrique. En revanche, il y a des exemples de gènes d'aquaporines, qui sont exprimés pendant le stress hydrique ayant pour résultat une plus grande perméabilité et une augmentation du flux de l'eau. (Mouellef, 2010)

IV. Approches biotechnologiques pour l'amélioration du blé à la tolérance au stress hydrique :

La quantité d'eau utilisable pour l'agriculture étant de plus en plus faible, la sélection de plantes tolérantes à la sécheresse apparaît comme une des solutions les plus efficaces pour atténuer cette contrainte et ainsi augmenter la production alimentaire.

Pour utiliser au mieux les ressources en eau et obtenir la meilleure production possible dans un contexte agroclimatique donné, les améliorateurs de plantes disposent de deux outils qui historiquement ont toujours participé équitablement au progrès agronomique : les pratiques agronomiques et les méthodes d'amélioration génétique des plantes (Ricroch *et al.*, 2011).

L'approche génétique est basée sur l'utilisation de la diversité allélique naturelle qui existe dans chaque espèce pour chaque gène, afin d'obtenir les meilleures combinaisons d'allèles pour produire les variétés les plus performantes dans un contexte agroclimatique donné (Gaufichon *et al.*, 2010). L'accès à des ressources génétiques aussi larges que possible est donc un atout essentiel pour le généticien améliorateur de plantes. Cependant, dans d'autres espèces plus ou moins éloignées de l'espèce considérée, il peut exister des gènes absents dans cette dernière mais dont les propriétés peuvent être intéressantes. C'est alors que l'utilisation d'une des techniques biotechnologiques, la transgénèse, devient indispensable. (Ricroch *et al.*, 2011)

Si les programmes d'amélioration génétique du maïs ou encore du riz font maintenant presque tous appel à la sélection assistée par marqueur et /ou transgénèse, ceux concernant le blé ont été retardés en raison de la difficulté à trouver du polymorphisme du fait de sa taille très importante, le génome du blé n'a pas encore été complètement séquencé. (Gaufichon *et al.*, 2010)

Cependant, la démarche traditionnelle du CIMMYT consistant à croiser les blés cultivés et sauvages pour obtenir des génotypes de blé dits synthétiques, c'est-à-dire n'existant pas dans la nature. Ces blés valorisent le réservoir de diversité des blés sauvages, notamment pour des caractères de tolérance à des stress biotiques et abiotiques dont la sécheresse. (Ricroch *et al.*, 2011)

I. Matériel végétal

L'étude a porté sur dix génotypes de blé dur (*Triticum durum Desf*) d'origine locale et introduite. Les génotypes utilisés sont répertoriés selon le catalogue officiel de l'ITGC (Tab. 02).

Tab.02 : Les génotypes étudiés et leurs origines.

Numéro de la variété	Génotype	Code	Origine
V1	Oued Zenati	OZ	Algérie
V2	Bidi17	B17	Algérie (Guelma1936).
V3	Ain Lahma	AL	Algérie
V4	Waha	W	Syrie (ICARDA).
V5	Vitron	V	Espagnr El Khroub 1986
V6	Gta Dur	GDUR	Mexique
V7	Wahbi	Wbi	Algérie
V8	Bni Mestina	BM	Algérie
V9	Simeto	Sim	Italie
V10	Cirta	Cir	ITGC Constantine Algerie

II. Mise en germination et disposition de l'essai

II.1. Pré germination des graines

Les graines choisies ont été sélectionnées selon leur taille et leur forme, 120 graines (6 x 10 x 2) des dix génotypes ont été stérilisées et désinfectées à la solution d'hypochlorite de sodium (NaOCl) à 70% contenu dans l'eau de javel pendant 10 minutes puis rincées trois fois à l'eau distillée stérile, une fois le rinçage est effectué, on laisse les graines pendant 2h dans de l'eau distillée pour le gonflements.

Les graines sont ensuite mises dans des boîtes tapissées par trois couches de papier absorbant humecté à l'eau distillée pour la pré-germination pendant une semaine à l'obscurité et à température ambiante du laboratoire. (Figure 08)



Figure 08 : La mise en germination des graines étudiées.

III. Conduite et organisation des essais

Cet essai a été réalisé au niveau du laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologies Végétales (GBBV) à Chaabet El Rasses, Université des frères Mentouri, Constantine.

IV. Préparation des pots et le semi

Les grains ont été mis en germination à l'obscurité, suite à laquelle le taux de germination a été révélé, les plantules sont transplantées ensuite dans des pots de 200 g.

Les pots ont été remplis par un mélange de sol agricole de la pépinière d'Université des frères Mentouri. Un totale de 120 pots devisé en deux lots, deux plantes dans chaque pot, chaque lots se compose de deux groupes ; 30 Témoin et 30 Stressé, donc 3 répétition pour les 10 variétés. (Figure 09)



Figure 09: Les dix variétés du blé dure à étudier, témoin et stressé

V. Préparation de solution BD et application de stress

Les pots ont été placés sous serre, ils sont irrigués régulièrement 3 fois par semaine, on a utilisé le milieu BD (BROUGHTON et DILLWORTH) (Annexe 01 ; Tableau 01) juste pour les deux premières semaines. Après l'obtention de la cinquième feuille, on a appliqué le stress par un arrêt d'arrosage pendant une semaine.

VI. Les paramètres étudiés

VI.1. Paramètres physiologiques

VI.1.1- La teneur relative en eau (TRE %)

La teneur relative en eau de la feuille a été déterminée par la méthode décrite par Barrs, (1968). 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 et placés à l'obscurité dans un endroit frais, après 24h les feuilles sont retirées, passées dans un papier buvard pour absorber l'eau de la surface,

pesées de nouveau pour obtenir le poids de la pleine turgescence (PT). Les échantillons sont enfin mis à l'étuve régler à 80°C pendant 48h et pesés pour avoir leur poids sec (PS). La teneur relative en eau est calculée par la formule suivante (la formule de Clark et Mac-Caig, 1982) :

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

VI.1.2- Mesure de la résistance stomatique (R_s m².s/mol)

La résistance stomatique au niveau des feuilles a été mesurée à l'aide d'un Poromètre type Delta-T Devices Cambridge UK. En premier lieu, on fait l'étalonnage de l'appareil; puis on lance la lecture. Il s'agit d'insérer la partie médiane de la feuille dans la pince (Herbinger et al., 2002). Les données de la résistance stomatique sont stockées dans l'appareil de mesure et ensuite transférées vers un ordinateur pour leur traitement. (Figure 10)



Figure 10: Prise de mesure de la résistance stomatique à l'aide du Poromètre.

VI.1.3. Mesure du taux de la chlorophylle totale (TCT unité de SPAD)

Le taux de chlorophylle au niveau des feuilles a été mesuré à l'aide d'une chlorophylle mètre SPAD 502 de Minolta (Nouri, 2002). L'appareil a la forme d'une pince que l'on tient dans la main ; il est compact et léger et entre dans n'importe quelle poche. Il mémorise jusqu'à 30 mesures, qui peuvent être affichées une à une. Les valeurs classiquement retrouvées se situent entre 0 et 50 (unités SPAD). La chlorophylle mètre est utilisé pour

évaluer la teneur en azote des feuilles puisque la majeure partie de l'azote est contenue dans la chlorophylle. Il suffit de fermer la pince vide sur elle-même pour étalonner l'instrument. Par la suite, trois prises de mesure sont effectuées au niveau de la feuille sur trois différents (sommet, milieu, et base). La moyenne des trois valeurs s'affiche sur l'écran à la fin (unité SPAD). Sachant que le temps de chaque mesure est de l'ordre de deux secondes. (Figure 11)



Figure 11: Mise de mesure avec le Chlorophylle mètre SPAD 502.

VI.2. Paramètres biochimiques

Les paramètres biochimiques consistent à mesurer les quantités des constituants des organes biologiques en général sucres solubles ; protéines totales ; acides aminées ; proline ; lipides ...etc.

On s'intéresse à mesurer :

VI.2.1. Dosage de la proline (Prol $\mu\text{g}/100\text{mg MF}$)

La proline ou acide pyrrolidine 2-carboxylique est l'un des vingt principaux acides aminés qui entrent dans la constitution des protéines. La proline est facilement oxydée par la ninhydrine ou tricetohydrindène. Elle sera déterminée selon la méthode de Troll et Lindsley (1995), modifiée par Monneveux et Nemmar (1986).

Chapitre II : Matériel et méthodes

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

- 1 ml d'acide acétique (CH_3COOH) ;
- 25 mg de ninhydrine ($\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_4$) ;
- 1 ml de mélange contenant :
 - 120 ml d'eau distillée ;
 - 300 ml d'acide acétique ;
 - 80 ml d'acide orthophosphorique (H_3PO_4 , d=1.7).

La solution obtenue est portée à ébullition pendant 30 mn à 100°C, la solution vire au rouge, après refroidissement, 5 ml de toluène sont rajoutés à la solution qui est agitée, deux phases se séparent (une phase supérieure à la couleur rouge contient la proline et une phase inférieure transparente sans proline). Après avoir éliminé la phase inférieure, la phase supérieure est récupérée est déshydratée par l'ajout d'une spatule de Sulfate de Sodium Na_2SO_4 anhydre (pour éliminer l'eau qu'elle contient). On détermine la densité optique (Do) à l'aide d'un spectrophotomètre (type 20D) sur une longueur d'onde de 528nm. Préalablement établie à partir d'une série de solution de concentration en proline connue. Cette courbe est utilisée pour déterminer les teneurs en proline dans les feuilles des plantes. (Figure 12)



Figure 12 : Proline extraite des dix variétés étudiée.

VI.2.2. Electrophorèse des protéines totales

Les protéines sont des molécules qui ont un rôle dans la structure et la fonction de la cellule, on peut les isoler, les analyser et les étudier. La séparation des protéines présente dans notre étude est faite à l'aide d'un gel SDS-PAGE permettant une séparation des protéines dans le gel selon leur poids moléculaire. La technique électrophorèse monodimensionnelle sur gel de polyacrylamide en présence de SDS est réalisée selon la méthode de (Laemmli, 1970) citée par (De Leonardis et al., 2007). Une variante de cette technique consiste à utiliser du SDS (Sodium Dodécylsulfate) qui est un détergent anionique fort. Il a la propriété de défaire la structure spatiale en se fixant sur les protéines et de les charger de la même façon permettant ainsi de les séparer uniquement en fonction de leur masse moléculaire. Il donne la charge négative aux protéines (aux chaînes de polypeptides) qui permet la migration des protéines vers l'anode. (Dicko, 2006) (Figure 13)

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. (Jangpromma et al., 2007) (Annexe 02)

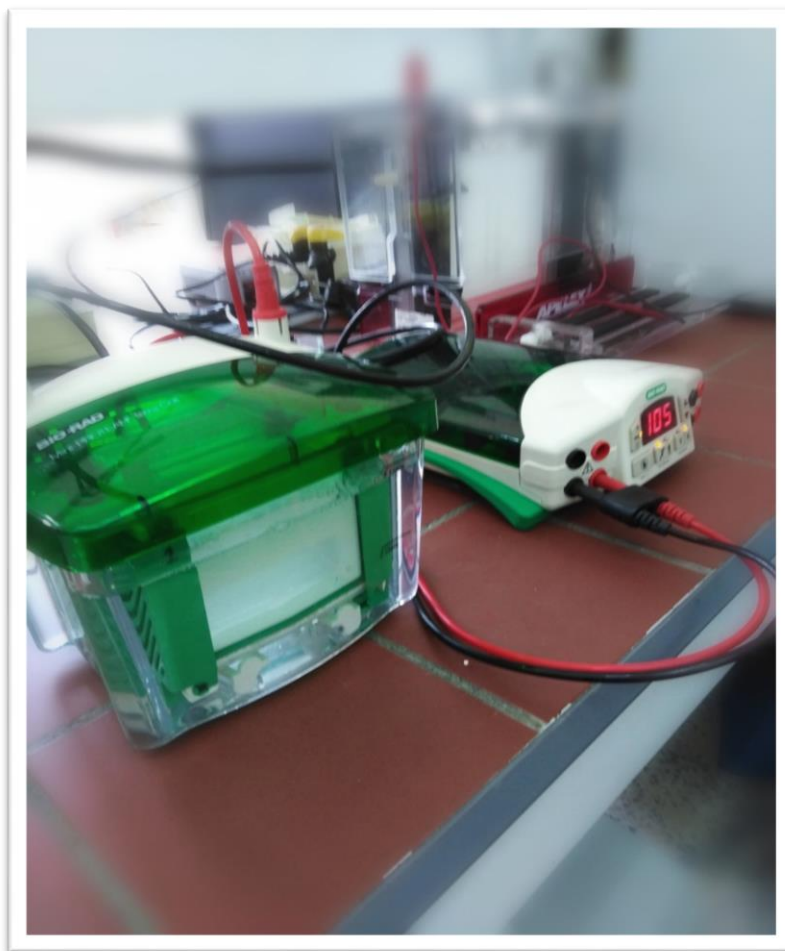


Figure 13 : Electrophorèse (BIO-RAD) des protéines totales sur gel d'acrylamide.

VI.2.3. Extraction des protéines totales

L'extraction des protéines totales des feuilles et des racines de blé dur se fait par la méthode (De Leonardis et al., 2007) comme suit:

1. Broyer à l'aide d'un mortier et d'un pilon 100mg de feuilles et de racines des échantillons témoins et stressés, pesé le jour même dans de l'azote liquide. Ce matériel végétale ainsi préparé peut être stocké à - 20°C (Zukas et Breksa, 2005).
2. Ajouter au broyat 1ml de la solution de précipitation (solution A (Annexe.03)) et homogénéiser dans un tube Eppendorf de 1.5ml.
3. Laisser reposer pendant 1h à - 20°C.
4. Centrifuger pendant 15mn à 4°C et à 13 000 rpm. -Eliminer le surnageant délicatement en renversant le tube (le culot ne doit pas décoller).
5. Laver les culots avec 1ml de la solution de rinçage (solution B (Annexe 03)).

6. 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).
7. Sécher les culots dans un dessiccateur pendant 15 à 30mn à 60°C (il ne faut pas qu'ils soient trop secs). Réduire en poudre les culots (à l'aide d'une baguette en verre).
8. Reprendre la poudre dans un volume de 100µl du tampon de solubilisation Laemmli buffer (Annexe.03).
9. Passer au vortex les tubes Eppendorf en mettant 5 min à 100°C, afin de favoriser la dénaturation des protéines.
10. Centrifuger les tubes Eppendorf à 10 000 rpm pendant 10mn à 20°C (température ambiante). Stocker à -20°C. Juste avant les dépôts, décongeler les échantillons, mélanger doucement et centrifuger à 10 000 rpm pendant 10mn à 20°C.

VII. Dépôt des échantillons et migration

1. Déposer 40 µl d'échantillons par puits à l'aide d'une microseringue. Un puits est réservé pour des standards de poids moléculaires connus (Annexe. 00) (dans chaque dépôt faire rincer la microseringue avec le tampon de migration).
2. Les cuves sont remplies de tampon de migration.
3. Les électrodes de la cuve sont reliées au générateur. Une tension électrique de 80 mA a été appliquée entre les électrodes (Dicko, 2006). Une fois la migration terminée, il faut attendre jusqu'à ce que le front de BBP atteigne le bord inférieur des plaques (Approximativement 2-3 h).

La migration se fait de la petite molécule de polypeptide à la grande molécule, la vitesse de migration de la dernière est plus faible que la première et la masse moléculaire est exprimée en KDa.

VII.1. Révélation des gels

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

VII.2. Exploitation des résultats

Afin de pouvoir caractériser les différences qui existent entre les variétés étudiés concernant les différents paramètres mesurés, nous avons calculé certains paramètres

statistiques à l'aide du logiciel d'analyse et traitement statistique des données *Excel STAT 2009*.

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

I. Paramètres physiologiques

I.1. La teneur relative en eau (TRE « % »)

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

D'après l'histogramme ci-dessous (Figure 08), on remarque une diminution graduelle de la TRE des plantes sous l'effet d'un stress hydrique.

Au niveau des témoins (T), les dix variétés étudiées marquent les meilleures valeurs de TRE, le génotype (OZ) représente la valeur maximale ($91.57 \pm 2,2$) %. Tandis que la valeur du TRE la plus faibles a été motionné chez (AL) ($75.85 \pm 1,32$) %

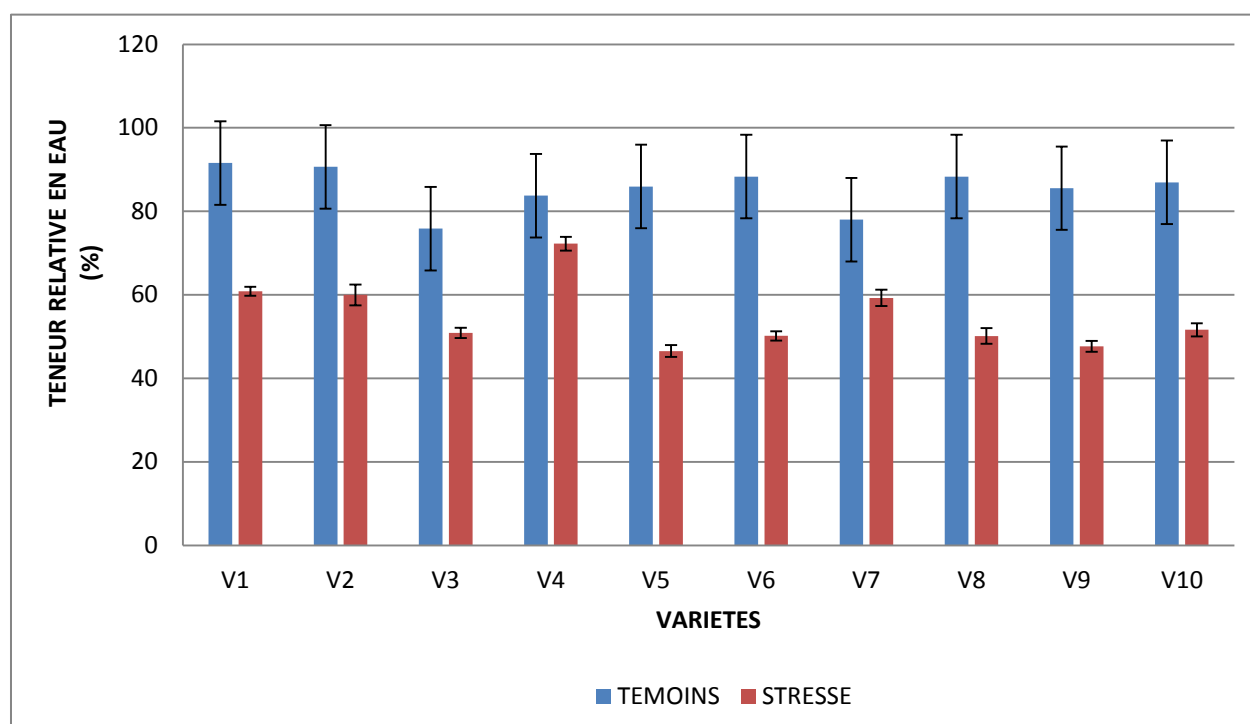


Figure 14 : Variation de taux de la teneur relative en eau des dix génotypes de blé dur, stressés et témoins.

(V1=OZ; V2=B17; V3=AL; V4=W; V5=V; V6=GDUR; V7=Wbi; V8=BM; V9=Sim; V10=Cir).

Au niveau des génotypes stressés, on note une diminution de la TRE chez l'ensemble des génotypes étudiés sous condition de manque d'eau, la valeur maximale chez le génotype

(W) de $(72,27 \pm 1,65\%)$, alors la valeur minimale est observée chez le génotype (V) $(46,52 \pm 1,42) \%$. (Figure 14).

L'analyse de la variance au facteur régime hydrique, donne une différence très hautement significative. Les mêmes résultats ont été obtenus au facteur génotype, traitement et au facteur interaction (génotype \times traitement). (Tableau 01, Annexe 04).

Le test **NEWMAN-KEULS** au seuil 5% Pour le facteur traitement donne deux groupes homogènes. Le premier groupe A contient les génotypes témoins avec une moyenne de $(84,948 \%)$. Le groupe B abritent les génotypes stressés avec une faible moyenne de la TRE avec $(56,072 \%)$ (Tableau 02-Annexe 04).

Le test **NEWMAN-KEULS** au seuil 5% classe le facteur variété en deux groupes homogènes (Tableau 10. Annexe 04). . Le premier groupe A porte les génotypes OZ de (78.45%) et W de (78.01%) et B17 de (76.74%) . Le deuxième groupe B porte les TRE qui sont enregistrées chez les variétés BM, Cir, GDUR, Wbi, Sim, AL et V, avec des valeurs qui varient entre $(70.50\%$ et $64.39\%)$.

La TRE est un indicateur très utilisé pour mettre en évidence l'état de la balance hydrique d'une plante. La diminution de la TRE chez la variété (V) est élevée, donc cette variété est très sensible au stress hydrique par rapport aux autres variétés. 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. (Albouchi et al., 2000)

La diminution de la TRE liée à la diminution de la photosynthèse, est due essentiellement à la réduction de la pénétration du CO₂ limité par une fermeture des stomates avec une conséquence une augmentation de la résistance de la feuille a la diffusion du CO₂. (Paut et Ferdermant 1991)

Ces résultats sont confirmées par (Amoumen et Benhebireche, 2013) qui ont montrées que la teneur en eau des feuilles chez le blé dur diminue proportionnellement avec l'augmentation de l'intensité du stress. En effet, (Bajji et al., 2001) signalent que la teneur en eau des feuilles diminue proportionnellement avec la réduction d'eau contenue dans le sol.

I.2. Mesure du taux de la chlorophylle totale (TCT « unité de SPAD)

Concernant ce paramètre au niveau du témoin, on note les valeurs de taux de chlorophylle totale différent selon les variétés, les 10 génotypes marquent des valeurs qui fluctuent entre (28.70 et 37,3) unité de SPAD, on note la valeur la plus élevée chez Cir (37,3 \pm 0,46) unité de SPAD, tandis que le TCT le plus faible a été mentionné chez le génotype Sim (28.70 \pm 1,04) unité de SPAD.

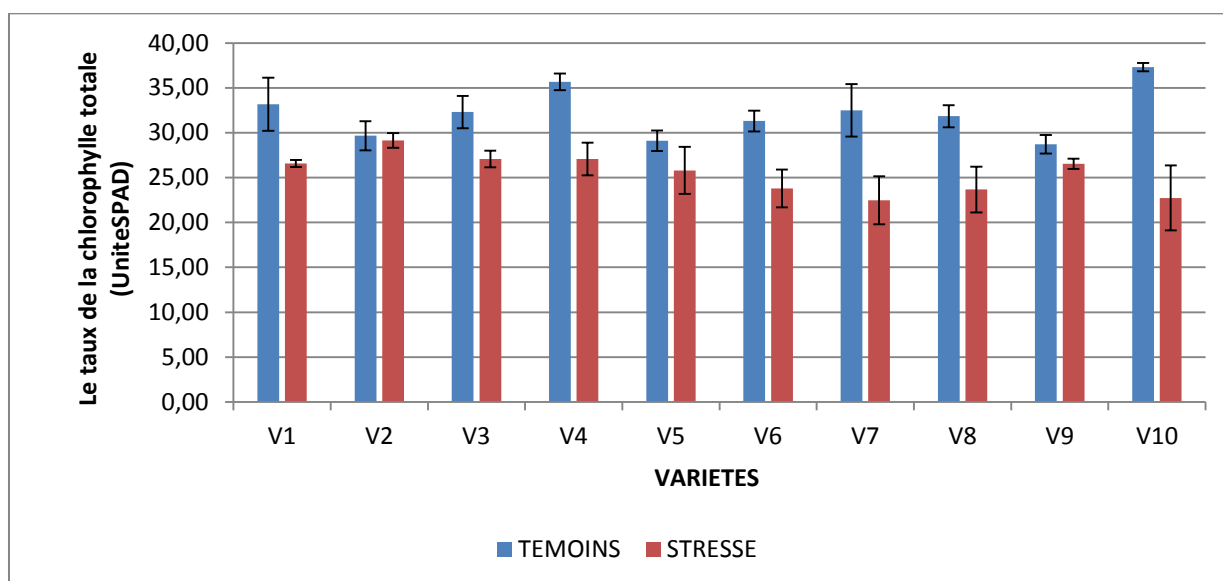


Figure 15 : Variation de Taux de la teneur du chlorophylle totale des dix génotypes de blé dur, stressés et témoins.

(V1=OZ; V2=B17; V3=AL; V4=W; V5=V; V6=GDUR; V7=Wbi; V8=BM; V9=Sim; V10=Cir).

Le taux de la chlorophylle totale diminue en présence du stress hydrique chez les différents génotypes étudiés. On remarque que tous les génotypes testés ont diminués leur TCT par rapport aux témoins. Le génotype B17 enregistre un taux maximal avec une valeur de (29,13 \pm 0,81) unité de SPAD et une valeur minimal (22.47 \pm 2,69) unité de SPAD enregistrée chez le génotype Wbi, (Figure 15).

La comparaison des moyennes de la TCT et l'analyse de variance, montrent qu'il existe une différence très hautement significative pour l'effet traitement, non significative entre les génotypes et entre l'interaction (génotypes \times traitement) (Tableau.03-Annexe.04).

Le test **NEWMAN-KEULS** au seuil 5% Pour le facteur traitement donne deux groupes homogènes .Le premier groupe A contient les génotypes témoins avec une moyenne de (32,270) unité de SPAD . Le groupe B abritent les génotypes témoins avec une faible moyenne de la teneur en chlorophylle avec (25,313) unité de SPAD (Tableau 04- Annexe 04).

Pour les plantes conduites sous stress hydrique, on note que les valeurs de la TCT diminuent avec l'augmentation du stress hydrique. Selon Hireche, (2006) les différentes observations de la teneur en chlorophylle totale entre les génotypes sont liées à la tolérance au stress hydrique, il montre dans ses travaux sur la luzerne que la variété *Dessica* a tendance à lutter contre le stress hydrique en baissant sa teneur en chlorophylle. Alors que la variété *Moapa* implique une stratégie inverse. (Siakhène, 1984)

L'augmentation de la TCT est la conséquence de la réduction de la taille des cellules foliaires sous l'effet d'un stress hydrique qui engendre une plus grande concentration (Siakhène, 1984).Par contre la chute des teneurs en chlorophylle est la conséquence de la réduction de l'ouverture des stomates visant a limité les pertes en eau par évapotranspiration et par l'augmentation de la résistance à l'entrée du CO₂ atmosphérique nécessaire a la photosynthèse. (Bousba et al, 2009)

La quantité de la chlorophylle des feuilles peut être influencée par beaucoup de facteurs tels que l'âge des feuilles, la position des feuilles, et les facteurs environnementaux tels que la lumière, la température et la disponibilité en eau. (Hikosaka et al., 2006)

I-3- La résistance stomatique

Au niveau du témoin, les différents génotypes présentent des résistances stomatique faibles. Toutefois, le génotype W enregistre la valeur la plus élevée de $(21,60 \pm 4,50) \text{ m}^2 \cdot \text{S/mol}$ contrairement au génotype V ayant la résistance stomatique la plus faible $(4,48 \pm 1,35) \text{ m}^2 \cdot \text{S/mol}$.

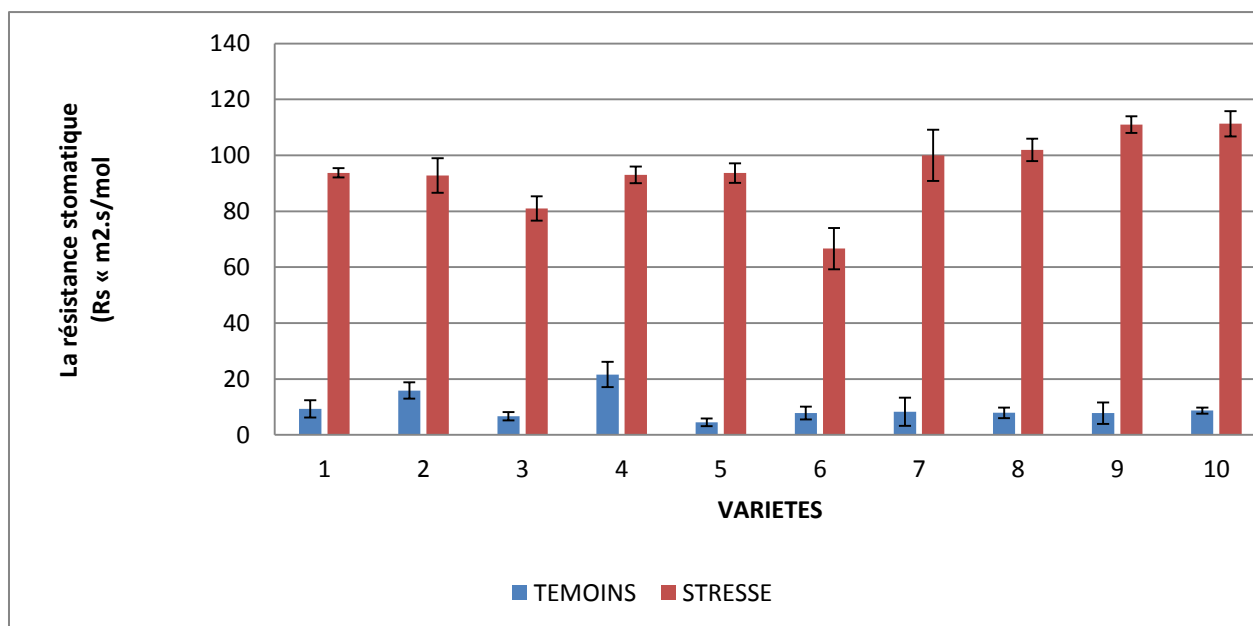


Figure 16 : Variation du taux de la résistance stomatique des dix génotypes de blé dur, stressés et témoins.

(V1=OZ; V2=B17; V3=AL; V4=W; V5=V; V6=Gta Dur; V7=Wbi; V8=BM; V9=Sim; V10=Cir).

Selon nos résultats concernant la résistance stomatique, une nette augmentation est observée chez la plupart des génotypes stressés, avec une valeur maximale est bien présenté chez le génotype (Cir) ($111.33 \pm 4,51$) $m^2.S/mol$ et une valeur minimale présente chez le génotype (GTA Dur) de ($66,67 \pm 7,37$) $m^2.S/mol$.

La comparaison des moyennes de la Rs et l'analyse de variance, montrent qu'il existe une différence très hautement significative pour l'effet traitement, hautement significative entre les génotypes et entre l'interaction (génotypes \times traitement) (Tableau 05, Annexe.05).

Le test **NEWMAN-KEULS** au seuil 5% Pour le facteur traitement donne deux groupes homogènes (Tableau 06-Annexe 04). Le premier groupe A contient les génotypes stressés avec une moyenne de $93,787 m^2.s/mol$. Le groupe B abritent les génotypes témoins avec une faible moyenne de la résistance stomatique avec $10,625 m^2.s/mol$ (Tableau 06, Annexe 04).

Le test **NEWMAN-KEULS** au seuil 5% classe le facteur variété en cinq groupes homogènes (Tableau 09, Annexe 04). Le premier groupe A correspond au génotype qui a la valeur de la Rs la plus élevée (W) $61,183 m^2.s/mol$. Le groupe AB comprend les génotypes Cir ($60,017 m^2.s/mol$) et Sim ($59,392 m^2.s/mol$). Le groupe ABC représentées par les

génotypes BM, Bidi 17, Wbi et OZ qui note une R_s de (54,950 m².s/mol, 54,333 m².s/mol, 54,158 m².s/mol, 51,550 m².s/mol) respectivement. Le groupe BC correspond au AL (43,833 m².s/mol). Le dernier groupe C représente le génotype Gta Dur (41,400 m².s/mol) et V (41,242 m².s/mol).

Les stomates jouent un rôle fondamental dans la régulation des pertes en eau de l'appareil foliaire. La régulation de l'ouverture-fermeture des stomates dépend du potentiel hydrique foliaire et de l'humidité de l'air au champ. (Turner., 1997)

La réduction de la perte en eau par la fermeture stomatique est un moyen d'adaptation des plantes au stress hydrique. Si la fermeture des stomates permet à la plante de réduire la sortie d'eau, elle limite aussi l'entrée de CO₂ (Benhamou, 2009). Cette diminution de la transpiration peut engendrer une réduction de la photosynthèse. (Hopkinsw, 2003)

La régulation de la conductance stomatique reste le mécanisme majeur intervenant à court terme pour limiter les pertes d'eau: le potentiel hydrique foliaire sera maintenu d'autant plus longtemps que la fermeture des stomates est précoce. (Maury et al., 2011)

II- Paramètres Biochimiques

II.1. La teneur en proline

Parmi les acides aminés pouvant être accumulés, la proline représente l'une des manifestations les plus remarquables des stress hydriques et osmotiques.

D'après l'histogramme ci-dessous on remarque que en condition d'une bonne alimentation hydrique (Témoin), on constate que les différents génotypes présentent une teneur en proline faibles. Toutefois, le génotype (W) enregistre la valeur la plus élevée de (5.16± 0,49) ug/100 mg MF, contrairement au génotype (Bidi 17) ayant la teneur en proline la plus faible (2.54± 1,27) ug/100 mg MF.

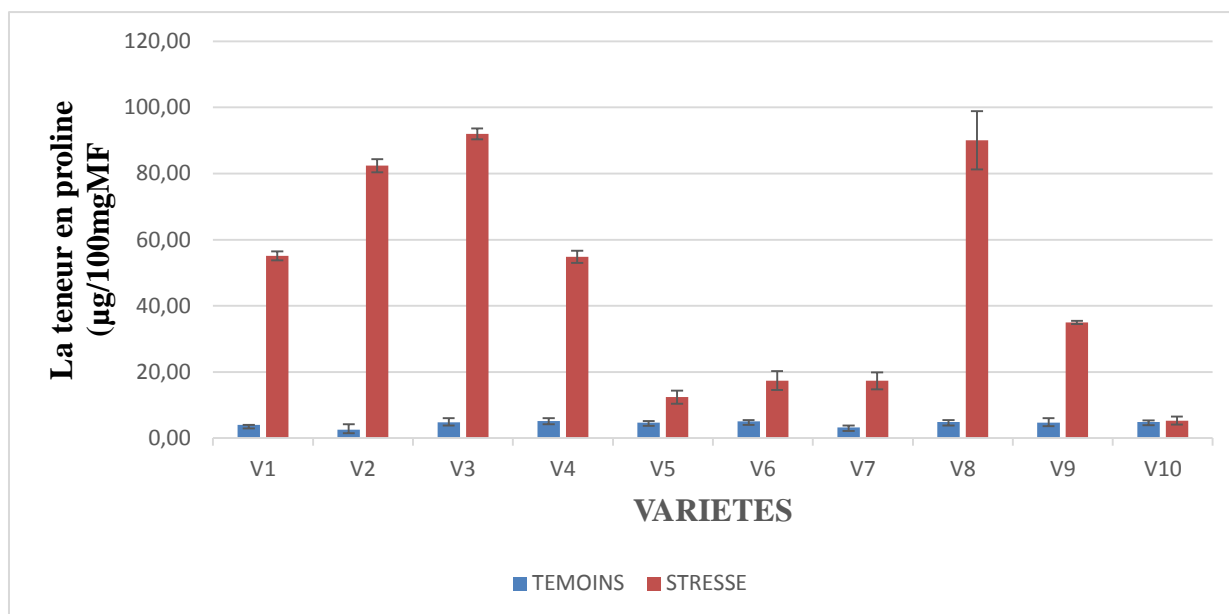


Figure 17: Variation de taux de l'accumulation du proline des dix géotypes de blé dur, stressés et témoins.

(V1=OZ; V2=B17; V3=AL; V4=W; V5=V; V6=GDUR; V7=Wbi; V8=BM; V9=Sim; V10=Cir).

Sous les conditions de stress on remarque qu'il y a une différence entre les géotypes testés, on observe un seuil maximal de proline chez AL ($91,98 \pm 1,64$) $\mu\text{g}/100$ mg MF. Par contre un seuil minimal enregistré chez le géotype Cir ($5,31 \pm 1,19$) $\mu\text{g}/100$ mg MF.

La comparaison des moyennes de la teneur en et l'analyse de variance, montrent qu'il existe une différence non significative pour l'effet traitement, hautement significative entre les géotypes et entre l'interaction (géotypes \times traitement) (Tableau 07 Annexe 04).

Le test **NEWMAN-KEULS** au seuil 5% Pour le facteur traitement donne deux groupes homogènes .Le premier groupe A contient les géotypes stressé avec une moyenne de 89,476 ($\mu\text{g}/100\text{mg MF}$). Le groupe B abrite les géotypes témoins avec une faible moyenne en teneur en proline avec 4,385 ($\mu\text{g}/100\text{mg MF}$) (Tableau 08- Annexe 04).

Toutes les variétés testés sous condition de stress ont montré une repense contre le stress appliqué, cette repense se représente par la synthèse et l'accumulation de la proline avec des taux différents entre les dix géotypes.

Ces résultats montrent qu'il y a une grande diversité entre les géotypes étudiés, exprimée par différents mécanismes de repense au stress hydrique. En effet, les variétés OZ,

B17, AL, W, Wbi et BM) utilisent la proline comme une stratégie de la tolérance au stress hydrique. La variation d'accumulation de la proline entre les génotypes de blé dur reflète une biodiversité entre ces génotypes. (Chaib et al., 2015)

Selon (Mouellef A, Ykhlef N, 2010) l'accumulation de proline constitue également un mécanisme réel de tolérance au stress hydrique. Dès SINGH & al. 1973, proposent de l'utiliser comme critère de tolérance de l'orge à la sécheresse. Plusieurs sélectionneurs et physiologistes ont utilisé la capacité de son accumulation dans le criblage de génotypes résistants au déficit hydrique Benlarabi & Monneveux (1988) sur le blé dur, Bellinger & al. (1989) sur le maïs.

La proline accumulée pourrait jouer un rôle d'osmoticum (Kauss, 1977). Elle pourrait, également, intervenir dans la régulation du pH cytoplasmique (Pesci & Beffagna, 1984) ou constituer une réserve d'azote utilisée par la plante postérieurement à la période du stress. (Tal & Rosenthal, 1979)

Cette corrélation négative entre l'accumulation de la proline et l'humidité du sol est observée chez différentes espèces de blé dur (Nouri, 2002), chez la luzerne. (Hireche, 2006)

Ainsi, l'accumulation de la proline est le résultat de l'inhibition de l'assimilation du CO₂ et l'augmentation du catabolisme des protéines et/ou une synthèse de nouveau de cet acide aminé. (Bachtarzi et Bensaad, 2015)

I.2. L'analyse des protéines totales

Le profile électrophorétique des protéines totales de dix génotypes de blé dur par la technique d'électrophorèse (SDS-PAGE) à révéler une différence significative dans le nombre de bandes chez les génotypes témoins et stressés en termes de présence et absence de bandes mais aussi en fonction de leur poids moléculaire et leurs intensité (Figure 18).

On remarque la présence de certaines bandes aussi bien chez les témoins que les stressées, alors que d'autres sont présentes ou absentes chez les stressées et les témoins. On remarque aussi que le nombre de bandes est plus élevé chez les stressées que chez les témoins. (Figure 18)

L'analyse des gels obtenus révèle la présence de 22 bandes différentes aux poids moléculaires allant de 97KDa à 14.4KDa. 20 bandes ont été observée aussi bien chez les

Chapitre III : Résultats et Discussions

témoins que chez les stressés, 2 bandes sont apparues que chez les stressés et n'ont pas présenté chez les témoins. On observe la présence de la bande avec ce poids moléculaire 34,478KDa chez tous les profils, (Tableau 03)

Tableau : 03 : Diagramme présence absence des bandes dans les feuilles des dix génotypes de blé dur soumis à un stress hydrique.

PM	v1	v2	v3	v4	v5	v6	v7	v8	v9	v10	v1s	v2s	v3s	v4s	v5s	v6s	v7s	v8s	v9s	v10s
97	0	0	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
66	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1	0	1	1	1	0	0	0
58,614	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
54,867	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0
49,278	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
45	1	1	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0
37,629	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
37,358	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
34,478	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
31,352	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1
30	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	0	1	1
27,586	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	0	1	1
26,47	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0
24,05	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0
23,43	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
21,49	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0
20,10	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0
19,164	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	1	0
17,598	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0
16,418	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
15,415	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
14,4	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0

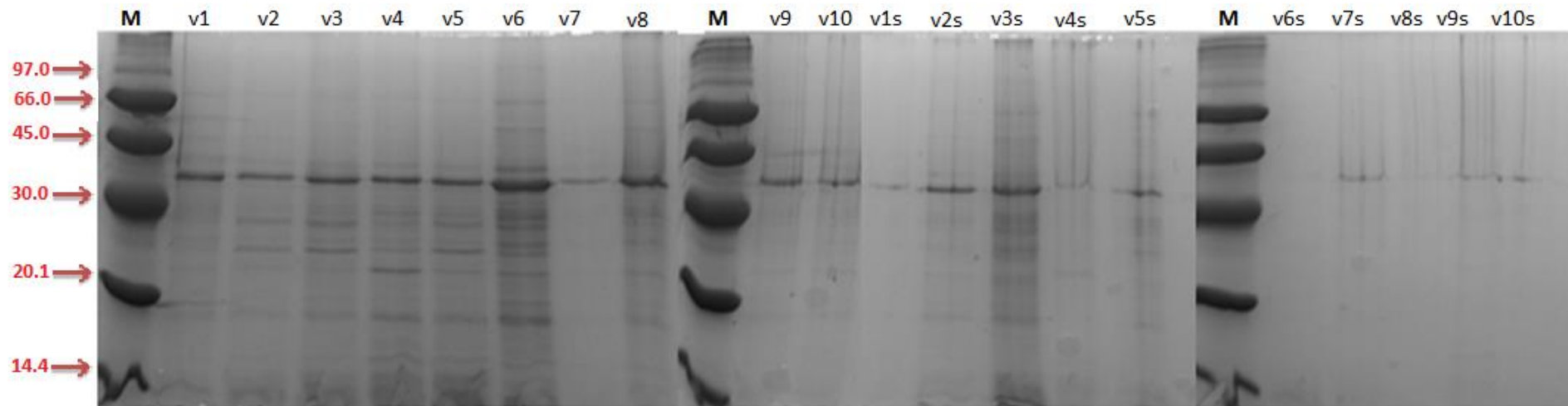


Figure 18: Profil électrophorétique SDS-PAGE des protéines totales des feuilles des dix génotypes du blé dur soumis à un stress hydrique.

(V1=Oued Zenati; V2=Bidi17; V3=Ain Lahma; V4=Waha; V5=Vitron; V6=Gta Dure; V7=Wahbi; V8=Bni Mestina; V9=Simeto; V10=Cirta).

Les bandes chez tous les 10 variétés témoins sont fortement marquées sauf chez le génotype Wbi (faiblement marqué) et moins nombreuses que ceux de leurs stressés. Alors les variétés (B17; AL; V ; Wbi; Sim; Cir) présentent des bandes plus marquées chez les stressés.

Les différences entre les génotypes témoins et leurs stressés se manifestent par des variations dans l'intensité des bandes. Chez les stressés dans le cas de la variété BM, 1 seule bande est présente (34,478Kda), alors que son témoin présente un total de 15 bandes.

Le génotype AL présente une totalité de 15 bandes fortement intenses qui varient de 97.0KDa et 14.4KDa, tandis que leurs témoins enregistrent le même nombre des bandes qui varient entre 97.0KDa et 14.4KDa.

Chez les 8 variétés stressées rester (OZ, B17, W, V, GDUR, Wbi, Sim, Cir), on remarque que certaines bandes sont présentes aussi bien pour les témoins que pour les stressées, d'autres sont absentes ou présentes chez les stressées et vis versa.

L'évaluation de nombre des bandes par SDS-PAGE indique qu'après un stress hydrique 22 bandes protéiques sont apparues chez le blé dur. Dans certains génotypes quelques nouvelles bandes apparaissent et d'autre disparaissent. L'augmentation de l'intensité des bandes est le résultat de l'augmentation des protéines. (Jasso *et al.*, 2002)

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

Ghasempour *et al.*, (2007) in Farshadfar *et al.*, (2008) annoncent qu'au cours d'un stress hydrique les feuilles de blé dur augmentent leurs teneurs en protéines solubles à faible poids moléculaire plus que les protéines à haut poids moléculaire.

Riccardi *et al.*, (1998) in Temagoult, (2009) ont analysé par électrophorèse bidimensionnelle les protéines foliaires chez deux lignés recombinantes de maïs l'une tolérante à la sécheresse et l'autre sensible. Parmi les 78 protéines étudiées le stress a affecté l'expression de ces derniers, 23 protéines ont été partiellement inhibées, 40 ont été surexprimées, 10 n'ont été visibles que chez les individus stressés et 5 renseignent sur une interaction génotype x environnement. 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)

Conclusion

Le stress hydrique constitue la principale contrainte abiotique responsable de la faiblesse du rendement des céréales et celle du blé dur dans les zones arides et semi-arides en Algérie. La tolérance au stress hydrique est un phénomène complexe faisant intervenir de nombreux mécanismes d'adaptation interagissant entre eux et avec les conditions du milieu.

Lors de ce travail, nous avons étudié la réponse de dix variétés de blé dur (**Oued Zenati; Bidi17; Ain Lahma; Waha ; Vitron; Gta Dure; Wahbi; Bni Mestina; Simeto; Cirta**) au stress hydrique, par l'analyse de quelques paramètres physiologiques et biochimiques.

Notre étude a montré que la sensibilité des variétés du blé dur au manque d'eau limite la production de la matière fraîche et du grain.

L'effet du stress hydrique est bien marqué entre les génotypes témoins et leurs stressés. La réponse au stress hydrique chez les dix variétés de blé dur testées révèle l'existence d'une grande variabilité pour la plupart des paramètres biochimique et physiologiques mesurés, à savoir : la teneur relative en eau, le taux de chlorophylle, la résistance stomatique, la teneur en proline et les protéines totales.

L'examen de l'ensemble des résultats obtenus dans cette partie de l'étude permet de mettre en évidence que le stress hydrique:

- Induit une baisse dans la teneur relative en eau (la variété **Waha** note la plus forte diminution en teneur relative en eau).
- une forte réduction du taux de chlorophylle a été marquée chez la variété **Bidi17**.
- Inversement il provoque une augmentation de la résistance stomatique qui été observé chez la variété **Cirta**.
- Une forte accumulation de la proline (**Ain Lahma** qui accumule le mieux la proline).

D'un autre côté, l'analyse des gels de protéines a révélé une différence significative dans le nombre et l'intensité des bandes mais aussi du poids moléculaire dont l'expression était modifiée par le stress hydrique. Au totales de 22 bandes différentes d'un poids moléculaire allant de 14.4KDa à 97.0KDa, nous avons noté un comportement diversifié dans l'expression deces protéines chez les dix variétés, d'où nous avons remarqué la présence ou absence de certaines bandes chez les témoins de même chez les stressés, d'autre part il existe un nombre

important des bandes révélées chez les variétés en condition de stress. Ces bandes représentent des protéines de stress.

En fin, l'étude a montré que les dix génotypes testés utilisent des stratégies différentes de tolérance vis-à-vis du stress hydrique.

A cet effet, la variété **Waha** par la teneur relative en eau et la variété **Cirta** par la résistance stomatique mettent en place des stratégies physiologiques comme mécanisme de tolérance au stress hydrique.

Par contre et la variété **Bidi17** utilise la teneur en chlorophylle comme moyen de réponse de la production au condition de stress

En fin, la variété **Ain Lahma** installe des mécanismes biochimiques tell que l'accumulation de la proline pour la tolérance au stress hydrique.

Les dix variétés accumulent un nombre important de protéines ceci suggère que ces variétés mettent en place des stratégies biochimiques et moléculaires pour répondre au stress hydrique. Ces résultats indiquent que les paramètres tell que TRE, Rs, la chlorophylle et l'accumulation de proline, peuvent être utilisés comme critères de sélection dans les programmes de l'amélioration du rendement de blé dur dans les régions aride et semi-aride.

En perspectives, il est souhaitable dans un futur travail :

- D'élargir l'étude sur plusieurs stades et cycle de développement de la plante.
- l'utilisation d'autres paramètres biochimique et physiologiques pour mieux comprendre les différents mécanismes mis en place dans les conditions de stress hydrique.
- Appliquer l'étude avec d'autres types de stress et/ou contraintes biotiques et abiotiques afin de mieux rependre au programme de sélection variétale.

Références Bibliographiques

- 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.
- Acevedo E. Conesa A. P. Monneveux P. & Srivastava J. P, 1989.** Physiology breeding of winter cereals for stressed mediterranean environments. *INRA Stat. Bioclimatologie*. 50-66.
- Ainaoui, S.** Etude comparative de l'effet du stress hydrique sur le Comportement de quatre génotypes de blé dur (*Triticum durum* Desf.).
- Amirouche A . & Djaaleb R, 2017.** Comparaison de quelques paramètres biochimiques chez quatre variétés de blé dur sous stress oxydatif généré par un stress hydrique. Mémoire Master. Univ Mentouri. Constantine.
- Amokrane A. Bouzerzour H. Benmahammed A. Djekoun A, 2002.** Caractérisation des variétés locales, syriennes et européennes de blé dur évaluées en zone semi-aride d'altitude. *Sciences et Technologie*. Numéro spécial D. 33-38.
- Amrouche I & mesbah K , 2017.** Effet de stress abiotique sur l'accumulation des protéines totales chez deux variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.).Mémoire de master.Univ Mentouri. Constantine.
- Anonyme , 2017.** La production céréalière en 2017
http://www.anagriculture2018.dz/?page_id=4290&lang=fr consulté le 03 juin 2019 13:51.
- Ansart C, 2017.** CIC Conférence International des Céréales 2017. www.igc.int.
- Araus J.L. Alegre L. Ali dib T. Benlarbi M. Monneveux P, 1991.** Epidermal and stomatal conductance in seedlings of durum wheat landraces and varieties. *Colloque Physiology-Breeding of Winter Cereals for Stressed Mediterranean Environments, Montpellier (France)*. 3-6 July 1989. Les colloques n°55. Paris.
- ARTICLE Slama A. Ben Salem M. Ben Naceur M. & Zid E, 2005.** Les céréales en Tunisie: production, effet de la sécheresse et mécanismes de résistance. *Sécheresse*. 16(3).225-229.
- Bamouh A, 2000.** Gestion de la contrainte pluviométrique pour l'amélioration de la production végétale et de l'efficacité d'utilisation de l'eau. *Bulletin de liaison du programme national de transfert de technologie en agriculture*. 85-90

Références Bibliographiques

- Bechtarzi N. & Bensaad N, 2015.** L'adaptation au stress hydrique chez le blé dur (*Triticum durum* Desf) : criblage des critères physiologique et biochimique. Mémoire master. Univ. Mentouri. Constantine.
- Ben Rejeb K. Abdelly C. & Savouré A, 2012.** La proline, un acide aminé multifonctionnel impliqué dans l'adaptation des plantes aux contraintes environnementales. *Biologie Aujourd'hui*. 206 (4) : 291-299.
- Benghersallah N, 2015.** Effet du stress oxydatif sur différentes variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf) et sur leurs systèmes défensifs. Univ Mentouri. Constantine.
- Benhamou N, 2009.** La résistance chez les plantes. Principes de la stratégie défensive et applications agronomiques. Ed. TEC et DOC. Paris. 213-218p.
- Benkolli M & Bouzeghaia B, 2016.** Etude biochimique de dix variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.) sous l'effet d'un stress oxydatif généré par un stress hydrique. Mémoire de master. Univ Mentouri. Constantine.
- Bernard R, 2006.** L'eau et la vie. (éd). Dauphin. Paris : 13- 59 p.
- Blum A, 1996.** Crop responses to drought and the interpretation of adaptation. *Plant Growth Regulation*. 20 : 135-148.
- Bousba R. Ykhlef, N. & Djekoun, A, 2009.** Water use efficiency and flat leaf photosynthetic in response to water deficit of durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *World Journal of Agricultural Sciences* 5. 5: 609 -616.
- Campalans A. Messeguer R. Goday A. & Pagès M, 1999.** Plant responses to drought
- Casals M.L, 1996.** Introduction des mécanismes de résistance à la sécheresse dans un modèle dynamique de croissance et de développement du blé dur. Thèse de Doctorat de l'INRA Paris Grignon, 93p.
- Chaib G. Benlaribi M. & Hazmoune T, 2015.** Accumulation d'osmotocums chez le blé dur (*triticum durum* desf.) sous stress hydrique. *European Scientific Journal*, ESJ, 11(24).
- Chaise L. Ferla A. J. Honore A. & Moukhli R, 2005.** L'impact du changement climatique sur l'agriculture en Afrique. Atelier Changement Climatique. ENPC.
- Chellali., 2007.** Marché mondial des céréales : L'Algérie assure sa sécurité alimentaire.
- Chenaffi H. Aïdaoui A. Bouzerzour H. Saci A, 2006.** Yield response of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivar Waha to deficit irrigation under semi-arid growth conditions. *A. J. P. S.* 5 : 854-860.

Références Bibliographiques

CIC, 2017.Conseils international des céréales. France AgriMer Marché du blé dur Campagne 2016/17 Projections 2017/18. p : 4-8.

Clarck & Mac-Caig. 1982. Excised leaf water relation capability as an indicator of droughtresistance of Triticum genotypes. Can.J . Plant Sci . **62**: 571-576 p.

Cook J. Johnson V. A. Allan R. E, 1991. Le blé.In: Greef. M.W.(Eds). Méthodes traductionnelles de sélection des plantes: un aperçue historique destiné à servir de référence pour l'évaluation du rôle de la biotechnologie moderne. Organisation de coopération et de développemnt économiques. Belgique. 27-38p.

Cornic G, 2008. Effet de la contrainte hydrique sur la photosynthèse foliaire: De l'utilisation expérimental des relations A/Ci et ACc .article. 36 p.

Crête P, 1965. Précis de botanique .Tome II, systématique des angiospermes .2 Ed .Paris : 11-38

Dani N, 2018. Excellente production de blé pour l'Algérie en 2018 <https://www.express-dz.com/2018/05/17/excellente-production-de-ble-pour-lalgerie-en-2018/>.

Davies W. J. Tardieu F. Trejo C, 1994. How do chemical signals workin plant that grow in driyng soil? Plant Physiol. 104: 309-14.

De Leonardis A.M.D., Marone D., Mazzucotelli E., Neffar F., Rizza F., Fonzo N.D., Cattivelli L. & Mastrangelo A.M. 2007. Durum wheat genes up-regulated in the early phases of cold stress are modulated by drought in a developmental and genotype dependent manner. Plant Sci. **172** : 1005 -1016 p.

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.

Dicko M. H. 2006. Travaux pratique biochimie structurale et enzymologie. Centre de Recherche en Sciences Biologiques Alimentaires et Nutritionnelles. Univ. Ouagadougou.

Djekoun A. & Ykhlef N, 1996. Déficit hydrique. Effets stomatiques et non-stomatiques et activité photosynthétique chez quelques génotypes de blé Tétraploïdes. 3ème Réunion du réseau SEWANA, de blé dur IAV HASSAN II (Maroc).

El Jaafari S, 1993. Contribution à l'étude des mécanismes biophysiques et biochimiques de résistance à la sècheresse chez le blé. Thèse de doctorat. Univ Gembloux. Belgique: 214p.

El Mourid M, 1988. Performance of wheat and barley cultivars under different soil moisture regimes in semi arid region. Ph.D. dissertation. Iowa State University Ames USA. 229p.

Références Bibliographiques

- Farshadfar E., Ghascmpour & Vaezi. 2008.** Molecular Aspectsof drought tolérance in Bread Wheat (*T.aestivum*).Pakistan Journal of Biological Sciences 11.1: 118-122 p.
- Feillet P, 2000.** Le grain de blé. Composition et utilisation. Mieux comprendre. INRA. Paris.
- Fokar M. Nguyen H.T. Blum A, 1998.** Heat tolerance in spring wheat Grain filling.Euphytica 104 : 9-15.
- François J. & Gaudry M, 1997.** Assimilation de l'azote chez les plantes: aspects physiologique, biochimique et moléculaire. INRA. Paris. 119-235.
- from ABA signal transduction events to the action of the induced proteins. Plant Physiol.Biochem. 37. 5: 327 - 340 p.
- Gallais A, 2015.** Structure des exploitations agricoles. Agreste - DRAAF Nord - Pas-de-Calais. p : 7-25.
- Grignac, 1978.** Amélioration variétale de blé dur (*Triticum durum* Desf.). Annale de l'INRA (El – Harrach) : 83 -110.
- Guy C.L, 2003.** Freezing tolerance of plants: eurrent understanding and selected emerging concepts. Canadian Joumal of Botany. 81 : 1216-1223.
- Hadjichristodoulou A, 1985.** Stability of Performance of Cereals in Low- Rain fall Areas as Related to Adaptive Traits. Drought Tolerance in Winter Cereals Proceedings of an International Workshop. 27-31 October, Capri, Italy. 191-199.
- Hayoun H, 2013.** Etude comparative de l'accumulation des déhydrines et mécanismes de tolérance du stress hydrique chez quelques variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.). Mémoire master Univ Mentouri Constantine.
- Henchi B, 1987.** Effets des contraintes hydriques sur l'écologie et l'écophysiologie de *Plantago albicans*. L. Thèse de doctorat d'État, université de Tunis.
- Herbinger K., Tausz M., Wonisch A., Soja G., Sorger A. & Grill D. 2002.** Complex interactive effects of drought and ozone stress on the antioxidant defence systems of two wheat cultivars. Plant Physiol. Biochem. 40: 691 - 696 p.
- Hireche Y, 2006.** Réponse de la luzerne (*Medicago sativa* L) au stress hydrique et à la profondeur de semis. Mémoire de magister, Département d'Agronomie. Université EL-Hadj Lakhdar, Batna.83p.
- Hopkinsw W, 2003 .** les relations hydriques dans la plante entière. In: Physiologie végétale. Ed. De book & Larcier. Bruxelles. 44-58p.

Références Bibliographiques

- Hsissou D , 1994.** Sélection In vitro et caractérisation de mutants de blé dur tolérants à la sécheresse. Thèse de doctorat. Univ. Catholique de Louvain.
- Jangpromma N., Kitthaisong S., Daduang S., Jaisil P. & Thammasirirak S. 2007.** 18 KDa protein accumulation in sugarcane leaves under drought stress conditions. Kmitl .Sci. Tech. J.7: 27- 44 p.
- Jangpromma N., Kitthaisong S., Daduang S., Jaisil P. & Thammasirirak S. 2007.** 18 KDa protein accumulation in sugarcane leaves under drought stress conditions. Kmitl .Sci. Tech. J.7: 27- 44 p.
- Kadi Z. Adjel F. & Bouzerzour H, 2010.** Analysis of the genotype X environment interaction of barley grain yield (*Hordeulvulgare*L.) cultivars. Adv. Environ. Biol. 4:34-40.
- Karakas O. Gurel F. & Uncuoglu A. A, 2011.** Assessment of genetic diversity of wheat genotypes by resistance gene analog-est markers. Genetics and Molecular Research 10:1098-1110.
- Laberche J.C , 2004.** La nutrition de la plante In Biologie Végétale. Dunod. 2eme (éd).Paris: 154 -163 p.
- Lamaze T. Tousch D. Sarda X. Grignon C. Depigny-This D. Monneveux P. Belhassen E, 1994.** Résistance de plantes a la sécheresse: mécanismes physiologiques. Le sélectionneur Français. 45: 75-85.
- Laumont & Erroux, 1961.** Inventaire des blés durs rencontrés et cultivés en Algérie. Mémoire de la société d'Histoire naturelle de l'Afrique du Nord n°5 nlle série.
- Laurent B. Ahmed B, 1991 .** La germination des semences en conditions sèches. Scinece et changements planétaires/Sécheresse. Volume2. Numéro 4 ,239-49.
- Leclerc J.C, 1999.** Ecophysiologie végétale. Publication de l'université de Saint Etienne.
- Lepoivre P, 2003.** Phytopathologie: Bases moléculaires et biologiques des pathosystèmes et fondements des stratégies de lutte. De Boeck Supérieur, 27-28.
- Levy A. A. & Feldman M, 2002.** The impact of polyploidy on grass genome evolution. Plant Physiology 130, 1587-1593.
- Madhava Rao K.V. Raghavendra A.S. & Janardhan Reddy K, 2006.** Printed in the Netherlands. Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants. Springer: 1-14 p.

Références Bibliographiques

- Maury P. Langlade N. Grieu P. Rengel D. Sarrafi A. Debaeke P. Vincourt P, 2011**. Ecophysiology and genetics of drought tolerance in sunflower. *Innovations Agronomiques*. **14** : 123-138. 16p.
- Mefti A. Abdelguerfi A. Chebouti A, 2000**. Etude de la tolérance à la sécheresse chez quelques populations de (*Medicago truncatula* L.). *Field Crops Research*. **66**: 165-174.
- Mekliche A., Boukecha D. & Hanifi-Mekliche L, 2003**. Etude de la tolérance à la sécheresse de quelques variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.). I. effet de l'irrigation de complément sur les caractères phénologiques, morphologiques et physiologiques. *Annales de l'institut national agronomique El Harrach* V24, (1).
- Monneveux P. & Nemmar M, 1986**. Contribution à l'étude de la résistance à la sécheresse chez le blé tendre (*Triticum aestivum* L.) et chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.) : étude de l'accumulation de la proline au cours du cycle de développement. *Agronomie* . **6** : 583-590.
- Mouellef A, Yklef N, 2010**. Morpho-physiological, biochemical and transcriptomics markers of drought tolerance in durum wheat (*Triticum durum* Desf.), SYNTHESIS WORKS GBBV LAB 2019, 93 p.
- Nana R. Tamini Z. Sawadogo M. Some P. P, 2010**. Etude morphologique comparative de cinq variétés de gombo (*Abelmoschus esculentus* L.) soumises à un stress hydrique. *10* (03) :28-38.
- Naville M , 2005**. La biodiversité des espèces cultivées: Analyse dans le cas du blé. Travail Réalisé dans le Cadre des Projets Personnels Encadrés.
- Neffar F, 2013**. Analyse de l'expression des gènes impliqués dans la réponse au stress abiotiques dans différents génotypes de blé dur (*Triticum durum*) et d'orge (*Hordeum vulgare*) soumis à la sécheresse. Thèse doctorat en Sciences. Université Sétif. 86p.
- Nemmar M, 1980**. Contribution à l'étude de la résistance à la sécheresse chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.) et chez le blé tendre (*Triticum aestivum* L.) : étude de l'accumulation de la proline sous l'effet du stress hydrique. Thèse D.A.A. ENSA. Montpellier. France. 65 p.
- Nouri L. 2002**. Ajustement osmotique et maintien de l'activité photosynthétique chez le blé dur (*Triticum durum*, Desf), en condition de déficit hydrique. Thèse de Magistère en Biologie végétale Univ Mentouri. Constantine. 77p.
- Nylander M. Svensson J. Palva E.T. Welin B.V, 2001**. Stress-induced accumulation and tissue-specific localization of dehydrins in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Mol Biol* **45**(3):263-79
Paris: 283 p.

Références Bibliographiques

Paut & Ferdermant, 1991. L'accumulation of CO₂ assimilation in cotton leaves to water stress and salinity. *Plant physiology*. 97 : 515-522.

Prats H , 1960 . Vers une classification des graminées .Revue d'Agrostologie .Bull. Soc Bot. France.

Rampino P. Pataleo S. Gerardi C. Mita G. Perrotta C, 2006. Drought stress response in wheat: physiological and molecular analysis of resistant and sensitive genotypes. *Plant, Cell and Environment*. 29: 2143–2152.

Rio C, 1993. L'eau et la production végétale. *Sécheresse*. 4: 75 – 83.

Salmi M, 2018. Caractérisation morpho-physiologique et biochimique de quelques générations F₂ de blé dur (*Triticum durum* Desf.) sous conditions semi-arides. Doctoral dissertation.

Samars Y. Bressan R. A. Csonka L. N. Garcia-Rios M. G. Paino D'Urzo M. & Rhodes D, 1995 . Proline accumulation during drought and salinity. In : *Environment and plant metabolism*. Smirnoff N. ed. Bios scientific publisher. Oxford.

SEMCHEDDINE, Nadjim. Évaluation de la tolérance à la sécheresse chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.) par l'étude du bilan hydrique et des paramètres phéno-morpho-physiologiques. 2018. Thèse de doctorat. Univ Ferhat Abbas. Sétif .

Shao H. B. Liang Z. S. Shao M. A, 2005. LEA proteins in higher plants: Structure, function, gene expression and regulation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 45:131–135.

Singh T. N. Paleg L. G. & Aspinall D, 1973. Nitrogen metabolism and growth in barley plant during water stress. *Aust. J. Biol. Sci.* 26: 45-56.

Slama A, 1996. Effet d'une contrainte hydrique édaphique sur le développement du système racinaire de deux variétés de blé dur. DEA de physiologie végétale, faculté des sciences de Tunis.

Slama A, 2002. Étude comparative de la contribution des différentes parties du plant du blé dur dans la contribution du rendement en grains en irrigué et en conditions de déficit hydrique. Thèse de doctorat en biologie. faculté des sciences de Tunis.

Tahri E. Belabed A. & Sadki K, 1997. Effet d'un stress osmotique sur l'accumulation de proline, de chlorophylle et des ARNm codant pour la glutamine synthétase chez trois variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.). *Bulletin de l'Institut Scientifique. Rebat*. **21**: 81 - 89 p.

Références Bibliographiques

- Tardieu F. & Simonneau T, 1998.** Variability among species of stomatal control under fluctuating soil water status and evaporative demand: Modeling isohydric and isohydric behaviors. *J. Exp. Bot.* 49: 419-432.
- Temagoult M. 2009.** Analyse de la variabilité de la réponse au stress hydrique chez des lignées recombinantes de Tournesol (*Helianthus annuus L.*). Mémoire de magistère. Univ. Mentouri. Constantine.
- Turner N. C, 1986 .** Adaptation to water deficit: a changing perspective. *Australian Journal of Plant Physiology.* 13: 175- 90 p.
- Turner N. C, 1997.** Further progress in crop water relations. *Adv Agron.* 58: 293-338.
- Ludlow M. M, Muchow R, 1990.** A critical evaluation of traits for improving crop yields in water limited environments. *Adv Agron .* 43: 107-53.
- Turner NC, 1986. Adaptation to water deficit: a changing perspective. *Aust J Plant Physiol.* 13 : 175-90.
- USDA (United States Department of Agriculture), 2017.** consulté le 19.05.2018.
<http://www.pleinchamp.com/grandes-cultures/actualites/les-previsions-de-production-de-ble-2017-18-legerement-revues-a-la-baisse-usda>.
- Vavilov, (cite par Auriou, 1967 et Moule, 1980).** Studies on the origin of cultivated plants. *Bull. App L. Bot and plant breed XVI:* 1- 25.
- Wang W.X. Brak. T. Vinocur B. Shoseyov. O. & Altman A, 2003.** Abiotic resistance and chaperones: possible physiological role of SP1, a stable and stabilising protein from *Populus*. In: Vasil IK (ed). *Plant biotechnology 2000 and beyond.* Kluwer. Dordrecht. pp. 439-443.
- Wise M.J. Tunnacliffe A, 2003.** POPP the question: what do LEA proteins do? *Trends Plant Sci.* 9:13–17.
- Ykhlef N., Mouellef A, 2010.** Caractères physiologiques et biochimiques de tolérance du blé dur (*Triticum durum Desf.*) au stress hydrique. Thèse de Magistère. Université Mentouri Constantine.
- Zerrad W. Maataoui B. S. Hilali S. El Antri S. & Hmyene A, 2008.** Etude comparative des mécanismes biochimiques de résistance au stress hydrique de deux variétés de blé dur. *Lebanese Science Journal,* 9(2), 27-36.

Références Bibliographiques

Zerrad W. Hillali S. Mataoui B. El Antri S. & Hmyene A , 2006. Etude comparative des mécanismes biochimiques et moléculaires de résistance au stress hydrique de deux variétés de blé.

Zouaoui I, 2016. Sélection assistée par marqueur liée aux contraintes biotiques et abiotiques chez le blé dur. Mémoire master. Univ Mentouri. Constantine.

Zukas A.A. & Breksa A.P. 2005. Extraction methods for analysis of Citrus leaf proteins by two-dimensional gel electrophoresis. *Journal of Chromatography A*. **1078**: 201 -205 p.

Annexe 01

MODE OPERATOIR : Préparation du milieu BD.

Tableau 01 : Ce protocole est d'après BROUGHTON et DILLWORTH

Solution mère		Pour 100ml	Volume a prélever	
1) CaCl ₂ 2H ₂ o	2M	294 g/l	29.4 g	2.5ml/5L
2) KH ₂ PO ₄	1M	136 g/l	13.6 g	2.5ml/5L
3) MgSO ₄	0.5M	123 g/l	12.3 g	2.5ml/5L
7H ₂ O	0.5M	87 g/l	8.7 g	
K ₂ SO ₄	2mM	0.34 g/l	0.034 g	
MnSO ₄				
4) Fe, EDTA	195mM	7.34 g/l	0.734 g	12.5ml/5L
5) Oligoéléments			pour 500ml	2.5ml/5L
H ₂ BO ₂	4mM	0.247 g/l	0.1235 g	
MgSO ₄	1mM	0.288 g/l	0.144 g	
7H ₂ O	0.4mM	0.100 g/l	0.05 g	
CuSO ₄	0.2mM	0.056 g/l	0.028 g	
5H ₂ O	0.2mM	0.048 g/l	0.024 g	
CoSO ₄ 7H ₂ O				
NaMoO ₄				
2H ₂ O				

Annexe 02

Préparation des gels

Gel de séparation (running gel) pour 4 plaques

Acrylamide à 35%	7.2 ml
Eau distillée	10.4 ml
Tris – HCl pH 8.8	6 ml
SDS à 10%	240 µl
APS à 1%	120 µl
Temed	24 µl

Gel de concentration (stacking gel) pour 4 plaques

Acrylamide à 35%	0.8 ml
Eau distillée	5.08 µl
Tris – HCl pH 6.8	2 ml
SDS à 10%	80 µl
APS à 1%	40 ml
Temed	8 µl

Annexe 03

Solutions de l'extraction des protéines totales

Solution de précipitation (placer au froid) (A)

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

Solution de rinçage (placer au froid) (B)

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

Laemmli (Tampon de dénaturation)

Tris-HCL	6,8 12.5 ml
SDS	2 g
Glycérol	10 ml
β -mércaptoéthanol	2 ml
Bleu de Bromophénol	0.0025 g
Eau qsp	100 ml

Solution de 20 ml de SDS à 10%:

Peser 2 g de SDS.

Ajouter 18 ml d'eau distillée et chauffer à 68° C.

Ajuster le pH à 7.2 avec du HCl.

Compléter le volume à 20 ml.

Stocker à température ambiante.

Annexe 04

Tableaux d'analyse de variance à deux facteurs fixes (AV2)

des paramètres étudiés

Tableau : 01 : Comparaison des moyennes de la teneur relative en eau obtenues à partir de stress appliqués aux dix variétés de blé dur. Résultats du test d'analyse de la variance à deux facteurs fixe de classification modèle linéaire généralisée $G \times T$

Source	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Gnotype	9	1611,331	179,037	9,160	< 0,0001
Traitement	1	12506,773	12506,773	639,908	< 0,0001
Gnotype x Traitement	9	1072,576	119,175	6,098	< 0,0001

Tableau : 02 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents de la teneur relative en eau.

Modalités	Moyenne	Regroupements
Témoin	84,948	A
Stressé	56,073	B

Tableau : 03 : Comparaison des moyennes de chlorophylle total obtenues à partir de stress appliqués aux dix variétés de blé dur. Résultats du test d'analyse de la variance à deux facteurs fixe de classification modèle linéaire généralisée $G \times T$

Source	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Gnotype	9	89,334	9,926	0,780	0,636
Traitement	1	725,928	725,928	57,041	< 0,0001
Gnotype*Traitement	9	128,650	14,294	1,123	0,369

** $p \leq 0,1$, ** $p \leq 0,05$, *** $p \leq 0,001$: respectivement significative, hautement significative et très hautement significative ; Ns : non significative.*

Tableau : 04 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents de chlorophylle total.

Modalités	Moyenne	Regroupements	
Témoin	32,270	A	
Stressé	25,313		B

Tableau : 05 : Comparaison des moyennes de la résistance stomatique obtenues à partir de stress hydrique appliqué aux dix variétés de blé dur.

Source	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Gnotype	9	3099,706	344,412	3,965	0,001
Traitement	1	103737,942	103737,942	1194,290	< 0,0001
Gnotype*Traitement	9	2732,933	303,659	3,496	0,003

Tableau : 06 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents de la résistance stomatique

Modalités	Moyenne	Regroupements	
Témoin	93,787	A	
Stressé	10,625		B

Tableau : 07 : Comparaison des moyennes de la proline obtenues à partir de stress hydrique appliqué aux dix variétés de blé dur.

Source	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Gnotype	9	96885,213	10765,024	1,814	0,096
Traitement	1	108607,600	108607,600	18,303	0,000
Gnotype*Traitement	9	97760,975	10862,331	1,831	0,092

Tableau : 08 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents de la teneur en proline.

Modalités	Moyenne	Regroupements	
Témoin	89,476	A	
Stressé	4,385		B

Tableau : 09 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents de la résistance stomatique.

Modalités	Moyenne	Regroupements		
Waha	61,183	A		
Cirta	60,017	A	B	
Simeto	59,392	A	B	
Bni Mestina	54,950	A	B	C
Bidi	54,333	A	B	C
Wahbi	54,158	A	B	C
Oued Zenati	51,550	A	B	C
Ain Lahma	43,833		B	C
Gta Dure	41,400			C
Vitron	41,242			C

Tableau : 10 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents de TRE.

Modalités	Moyenne	Regroupements	
Oued Zenati	78,452	A	
Waha	78,012	A	
Bidi	76,738	A	
Bni Mestina	70,500		B
Cirta	70,308		B
Gta Dure	69,190		B
Wahbi	67,775		B
Simeto	65,048		B
Ain Lahma	64,687		B
Vitron	64,393		B

Accumulation de la proline et des protéines totales chez quelques variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf) cultivé sous condition de stress hydrique.

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

Résumé :

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

Dans notre travail on a étudié l'effet de stress hydrique et la variabilité de la réponse chez dix génotypes de blé dur (*Triticum durum* Desf) Oued Zenati; Bidi17; Ain Lahma; Waha; Vitron; Gta Dure; Wahbi; Bni Mestina; Simeto et Cirta.

Dans la première partie, nous avons étudié quelques paramètres physiologiques et biochimiques à savoir la teneur relative en eau, la teneur en proline, le taux de la chlorophylle totale et La résistance stomatique.

Les résultats obtenus montrent que le stress hydrique a entraîné, une diminution de la teneur relative en eau et du taux de la chlorophylle totale. De même, une augmentation de la résistance stomatique et une accumulation de la proline a été enregistrée.

Dans la deuxième partie, on a analysé par SDS-PAGE les protéines totales exprimées dans les feuilles des génotypes étudiés avec ou sans stress hydrique, les profils électro-phorétique obtenus nous donnent des bandes présentes aussi bien chez les témoins que chez les stressées, alors que d'autres sont présentes que chez les stressés ou absentes chez eux.

En conclusion, l'étude a montré que le stress hydrique provoque les mêmes mécanismes de la réponse chez les dix génotypes mais à des degrés différents

Mots clés : Blé dur (*Triticum durum* Desf.), déficit hydrique, proline, protéines totales, paramètres physiologiques.

Laboratoire de recherche : Laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologies Végétales *GBBV*

Jury d'évaluation :

Présidente : BOUSBA R. (M.C.A- UFM Constantine),
Encadrant : YKHLEF N. (Prof. - UFM Constantine),
Examinatrice : HAMPLA C. (M.C.B- UFM Constantine).

Date de soutenance : 17 /07/2019