



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 :

Effet du PEG-6000 sur la germination du blé dur (*Triticum durum* Desf) et recherche *in silico* de gènes codant pour les facteurs de transcription WYRK.

Présenté par :

KAGHOUCHE Mourtada Med Lokmane

Jury d'évaluation :

Présidente du jury : BOUSBA Ratiba, MCA- UFM Constantine.
Encadrant : YKHLEF Nadia, Pr - UFM Constantine.
Examinatrice: MOUELLEF Adra, MCB - UFM Constantine.

Année universitaire
2019 – 2020

Dédicace

C'est avec un énorme plaisir et une joie immense que je dédie mon travail :

À mes très chers et précieux parents, ma mère Samia et mon père Ahcène qui m'ont inconditionnellement soutenu, encouragé et assisté à chaque instant de ma vie.

À La mémoire de mes grands parents paternels et maternels, ceux que j'ai connu et ceux que je n'ai pas eu le plaisir de connaître, que Dieu leur accorde la paix éternelle et les accueille dans son vaste paradis.

À mon très cher oncle Mohamed Larbi, que le miséricordieux lui accorde sa clémence, qui a été rappelé à Dieu cette année, après un rude combat avec une maladie dévastatrice, qui ne lui a pas permis d'être aujourd'hui parmi nous, lui qui a été toujours derrière moi, m'encourageant et me soutenant dans tout ce que j'entreprends dans ma vie, et dont le souvenir restera à jamais gravé dans ma mémoire !

À mon frère Rachad Mohamed Madjdi à qui je souhaite plein succès dans sa vie avec un avenir radieux.

À mes tantes : Abla, Amina et Oubtissame, qui ont toujours été là pour me soutenir et m'encourager,

À mes très chères cousins et amis, où qu'ils se trouvent, à tous ceux que j'ai omis de citer, mais qui me reste toujours chers, tant qu'ils sont nombreux.

Remerciements

Ma gratitude est pour le miséricordieux tout puissant qui m'a généreusement envahie par ses grâces et ses bienfaits.

Je tiens à exprimer ma grande gratitude et mes vifs remerciements à tous ceux qui ont contribué à ma formation tout au long de mon parcours universitaire.

Je remercie vivement mon encadreur, le Pr Ikhlef Nadia, à qui je tiens à exprimer toute ma reconnaissance et mon respect à son égard pour avoir accepté de m'encadrer et me donner de précieux conseils et orientations, me manifester sa disponibilité, sa patience, et sa gentillesse. Qu'elle en soit sincèrement gratifiée de ma profonde reconnaissance.

Je remercie également et chaleureusement mon enseignante, Mme Hamla Chourouk, qui a accepté d'être mon co-encadreur et m'a généreusement suivi, conseillé, et orienté, qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.

Mes plus vifs remerciements vont aussi à Mme Bousbaa Ratiba, Maître de Conférence A, pour avoir voulu me faire l'honneur de présider le jury, et à Mme Mouellef Adra, Maître de Conférence B, pour avoir accepté d'examiner mon travail et d'être membre du jury.

Ma considération va également à tous mes enseignants qui m'ont permis d'acquérir de nombreuses connaissances, Particulièrement toute l'équipe pédagogique de la spécialité « Biotechnologie et génomique végétale ».

Merci pour tout, Merci à tous !

Résumé

Le blé est une des céréales les plus employées dans l'alimentation des populations mondiales. Elle constitue également une source alimentaire importante pour les familles algériennes, notamment le blé dur. La demande de plus en plus forte de cette dernière n'est pas totalement satisfaite par l'agriculture en raison de l'instabilité des rendements et les irrégularités des précipitations. L'augmentation des rendements par le recours à la culture de génotypes plus tolérants au déficit hydrique s'avère ainsi nécessaire.

Or l'obtention de ces génotypes repose sur la compréhension des mécanismes de tolérance au stress hydrique et la réalisation des programmes d'amélioration génétique. Dans le cadre de notre étude, deux approches étaient retenues : L'étude de la germination de deux variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.), Beliouni et Waha, sous conditions de stress hydrique en présence de PEG-6000 et l'étude moléculaire, *in silico*, des protéines WYRK impliquées dans l'adaptation du blé dur au stress hydrique

Les résultats obtenus, par les deux approches, se complètent et permettent la compréhension des mécanismes de tolérance au stress hydrique des deux variétés, qui semble privilégier, la stratégie adaptative comme réponse au stress imposé.

Mots clés : Stress hydrique, blé dur, PEG-6000, germination, tolérance, indicateurs, protéine.

ملخص

يعد القمح من أكثر الحبوب استخدامًا في النظام الغذائي لسكان العالم. كما أنه مصدر غذائي مهم للعائلات الجزائرية، وخاصة القمح. الطلب المتزايد على هذا الأخير لا يتم تلبيته بالكامل من قبل الزراعة بسبب عدم استقرار المردود وعدم انتظام هطول الأمطار. لذلك زيادة فإن المردود باستخدام الأنماط الجينية التي تتحمل العجز المائي يصبح أمراً ضرورياً.

يعتمد الحصول على هذه الأنماط الجينية على فهم آليات تحمل الإجهاد المائي وتنفيذ برامج التحسين الوراثي. في إطار دراستنا هذه ، تم الاحتفاظ بمقاربتين: دراسة إنبات نوعين من القمح الصلب (*Triticum durum* Desf.) ، Waha و Beliouni ، تحت ظروف الإجهاد المائي في وجود PEG-6000 و دراسة جزيئية ، *in Silico* لبروتينات WYRK التي تساهم في مقاومة القمح الصلب للإجهاد المائي

النتائج التي تم الحصول عليها من خلال المقاربتين تكمل بعضها البعض وتسمح لنا بفهم آليات التأقلم مع الإجهاد المائي عند النوعين، والذي يبدو أنهما يفضلان، إستراتيجية التأقلم كاستجابة للعجز المفروض المفروضة.

الكلمات المفتاحية: الإجهاد المائي ، القمح الصلب ، PEG-6000 ، الإنبات ، التأقلم ، المؤشرات ، البروتين.

Abstract

Wheat is one of the most widely used cereals in the diet of the world's populations. It is also an important food source for Algerian families, notably its highly appreciated durum wheat. The growing demand for the latter is not fully satisfied by agriculture due to the instability of its yields and irregularities in rainfall.

It is therefore necessary to increase yields by resorting to the cultivation of genotypes that are more tolerant of water deficit. However, obtaining these genotypes relies on understanding the mechanisms of tolerance to water stress and carrying out genetic improvement programs. Within this framework of our study, two approaches were retained:

The study of the germination of two varieties of durum wheat (*Triticum durum* Desf.), Beliouni and Waha, followed under conditions of hydric stress in the presence of PEG-6000 and the molecular study, *in silico*, of WYRK proteins involved in the adaptation of durum wheat to water stress.

The results obtained by the two approaches complement each other and allow us to understand the mechanisms of tolerance to water stress of the two varieties, which seems to favor, the adaptive strategy as a response to the stress imposed.

Key words: Water stress, durum wheat, PEG-6000, germination, tolerance, indicators, protein.

Liste des abréviations

B	Béliouni
CG	Cinétique de Germination
OMA	Organisation Mondiale de l'Agriculture
G	Taux de germination finale
IG	Index de la Germination
IV	Indice de Vigueur
LC	Longueur de la Coléoptile
LF	Longueur des Feuilles
LR	Longueur Racinaire
LR/LF	Ratio Longueur Racinaire/Longueur Foliaire
MDG	Germination moyenne journalière
NBR	Nombre de Racines
NCBI	National Center for Biotechnology Information
NGG	Nombre de Graines Germées
NTG	Nombre Total de Graines (incubées)
PEG	Polyéthylène Glycol
PI	Promptness index
S	Solution
SF	Surface foliaire
SI	Indice de la tolérance au stress de la germination
W	Waha

Liste des figures

Numéro	Titre	Page
1	Origine et diffusion de <i>Triticum turgidum</i> (Bonjean, 2001)	5
2	Cycle de développement du blé (Henry <i>et al.</i> , 2000)	7
3	Les différents stades de développement du blé (Ait Slimane et Ait Kaki, 2008).	9
4	Coupe au niveau de grain du blé (Clerget, 2011).	13
5	Courbe théorique de la germination. (Bensaadi, 2011)	16
6	Photographie des graines des deux variétés de blé dur utilisées dans l'étude (Beliouni et Waha).	27
7	Dispositif utilisé pour la germination.	29
8	Recherche nucléotidique sur le site NCBI	33
9	Représentation en histogramme des taux moyens de germination finale des deux variétés.	36
10	Courbes de la cinétique de germination du génotype Béliouni	37
11	Courbes de la cinétique de germination du génotype Waha	38
12	Histogramme de la cinétique de germination des deux génotypes en situation de non contrainte	39
13	Histogramme de la cinétique de germination des deux génotypes en situation de PEG 5%	39
14	Histogramme de la cinétique de germination des deux génotypes en situation de PEG 10%	40
15	Histogramme de la cinétique de germination des deux génotypes en situation de stress au PEG 20%	40
16	Recherche sur NCBI de la séquence d'intérêt WYRK triticum	46
17	Sélection de la séquence recherchée, en triant les résultats obtenus	46
18	Recherche de la séquence souhaitée dans la catégorie gène	47
19	Recherche dans BLAST l'alignement de la séquence d'intérêt à l'aide d'un moteur de recherche	48
20	La recherche de la séquence souhaitée dans la catégorie gène WYRK du blé dur	49
21	Utilisation du lien FASTA pour faire apparaître la séquence de la protéine (cas du blé tendre)	50
22	Représentation des séquences d'intérêt WYRK du blé	51
23	Représentation des séquences d'intérêt WYRK du blé (cas du blé tendre)	51

Liste des tableaux

Numéro	Titre	Page
1	Classification botanique du blé dur (Feillet, 2000).	6
2	Evolution du taux de germination finale du génotype Béliouni suivant les solutions provoquant le stress hydrique.	34
3	Evolution du taux de germination finale du génotype WAHA suivant les solutions provoquant le stress hydrique.	35
4	Indice de tolérance des deux variétés de blé dur objet de l'essai	36
5	Germination moyenne journalière des deux génotypes	41
6	Promptness index (PI) des deux génotypes	41
7	La longueur racinaire des Variétés Béliouni et Waha	42
8	Nombre de racines des deux génotypes	43
9	Longueur du coléoptile des variétés Béliouni et Waha	43
10	La longueur des feuilles des deux génotypes	44
11	La surface foliaire des variétés Béliouni et Waha	44
12	Ratio Longueur racinaire/longueur foliaire	45

Sommaire

<i>Introduction</i>	
.....	1
<i>Chapitre I : Revue bibliographique</i>	
.....	4
1. Le blé dur.....	4
1.1. Généralité	4
1.2. Origine et répartition géographique.....	4
1.3. Origine génétique.....	5
1.4. Classification botanique	6
1.5. Cycle de développement	6
1.5.1. Période végétative	6
1.5.2. Période de germination	7
1.5.3. Période de levé et de tallage	7
1.5.4. Période de reproduction.....	8
2. La culture du blé dur et son importance.....	10
2.1. Dans le monde	10
2.2. En Algérie.....	10
3. La germination.....	11
3.1. Définition	11
3.2. Composition du grain du blé.....	12
3.3. Condition de germination.....	13
3.4. Les facteurs externes influençant la germination.....	14
3.5. Physiologie de la germination.....	15
4. Le stress hydrique.....	16
4.1. Notion de stress.....	16
4.2. Le stress hydrique.....	17

4.3. Les effets du stress hydrique sur la germination.....	17
5. Mécanismes d'adaptation au stress hydrique.....	18
5.1. L'esquive.....	18
5.2. L'évitement.....	19
5.3. La tolérance.....	19
6. Les mécanismes moléculaires de la tolérance au stress hydrique.....	20
6.1. Les gènes et les produits de gènes induits en cas de stress hydrique.....	20
6.2. Activation transcriptionnelle des gènes.....	23
6.2.1. Les Facteurs de Transcription ranscription.....	23
6.2 .2. Les facteurs de WYRK.....	24
6.2.3. Analyses de l'expression des gènes, techniques et méthodes.....	24

Chapitre II : Matériel et Méthodes

.....	27
1. Matériel végétal.....	27
2. Mise en place de l'essai : Application du stress hydrique et stade de mesure.....	28
3. Paramètres étudiés.....	29
3.1. Taux de germination final (G, %).....	29
3.2 Cinétique de germination (CG, %)	29
3.3. Germination moyenne journalière (MDG,%)......	30
3.4. Promptness Index(PI).....	30
3.5. Indice de la tolérance au stress de la germination (GSI).....	30
3.6. Longueur racinaire (LR, cm).....	30
3.7. Nombre des racines (NBR).....	30
3.8. Longueur du coléoptile (LC, cm).....	31
3.9. Longueur des feuilles (LC, cm).....	31
3.10. Surface foliaire (SF, cm ²).....	31
3.11. Ratio longueur racinaire/longueur foliaire (LR/LF).....	32
4. Recherche de gènes codant pour les facteurs de transcriptions WYRK dans GENBANK.....	32
5. Analyse et traitements des données.....	32

CHAPITRE III : Résultats et discussion

.....	34
1. Effet du stress hydrique sur les paramètres de la germination.....	34
1.1. Taux de germination final (G, %).....	34
1.1.1. Taux de germination finale pour le blé dur Béliouni.....	34
1.1.2. Taux de germination finale pour le blé dur Waha	35
1.1.3. Comparaison du taux de germination finale des deux génotypes.....	35
1.2. Indice d tolérance(IT).....	36
1.3. Cinétique de germination (CG, %).....	37
1.3.1. Cinétique de germination génotype Béliouni (CG, %).....	38
1.3.2. Cinétique de germination du génotype Waha (CG, %).....	38
1.3.3. Comparaison de la cinétique de germination des deux génotypes (CG, %)	38
1.4. Germination moyenne journalière (MDG, %).....	40
1.5. Promptness Index(PI)	41
1.6. Longueur racinaire (LR, cm).....	42
1.7. Nombre des racines (NBR).....	42
1.8. Longueur du coléoptile (LC, cm).....	43
1.9. Longueur des feuilles (LC, cm).....	44
1.10. Surface foliaire (cm ²).....	44
1.11. Ratio longueur racinaire/longueur foliaire.....	44
2. Gènes codant pour les facteurs de transcriptions WYRK (approche <i>in silico</i>).....	45
2.1. La banque de données NCBI	45
2.2. GenBank	45
2.3. Recherche des facteurs de transcriptions WYRK dans GenBank	45

Conclusion et perspectives

.....	53
-------	----

Bibliographie

.....	55
-------	----

Introduction

Introduction :

Les céréales constituent d'une part importante des ressources alimentaires de l'homme et de l'animal (Karakas *et al*, 2011), particulièrement les blés dur et tendre. Les produits issus de la transformation de ces blés sont utilisés sous différentes formes et constituent des éléments essentiels dans les modèles alimentaires de la population mondiale (FAO, 2020). La production mondiale, en progression constante et les échanges qui se multiplient entre les régions du monde font de cette céréale l'une des principaux acteurs de l'économie mondiale (Lesage, 2011).

Cependant la croissance rapide de la population, l'urbanisation, les changements dans les habitudes de consommation, et surtout les changements climatiques et la sécheresse, mettent à rude épreuve la capacité de l'agriculture mondiale à fournir les aliments nécessaires à l'amélioration des moyens de subsistance d'une manière durable (FAO, 2020).

Ainsi la récolte mondiale du blé, pour la campagne 2019 -2020, estimée par la FAO à environ 762,6 millions de tonnes, devra couvrir difficilement la consommation mondiale. Ce niveau de production est, d'ailleurs, en deçà de celui des cinq dernières années.

En Algérie, de part leur importance et leur poids dans la sécurité alimentaire, les blés dur et tendre constituent une des bases essentielles de l'alimentation humaine, notamment la semoule (couscous et pâtes) et la farine (pain), et également de l'alimentation animale (sons et farines basses). Or face à la demande, devenue de plus en plus forte en raison de l'accroissement de la population algérienne, les capacités de production du pays n'ont pas évoluées, en raison des conditions climatiques qui influencent grandement l'agriculture et ses rendements.

L'aire céréalière algérienne, se situant principalement dans les hauts plateaux et les plaines intérieures, régions assimilées à l'étage bioclimatique semi-aride (Zitouni, 2006), subit les déficits hydriques qui y sont fréquents, causant des changements importants dans les potentialités productives de l'agriculture (Royo et Abio, 2003).

Pour parer à cette situation, améliorer les rendements de la céréaliculture algérienne et réduire la dépendance alimentaire du pays envers les importations, il paraît nécessaire de recourir à la culture de variétés tolérantes au déficit hydrique. L'obtention de celles-ci repose sur la réalisation des programmes d'amélioration génétique.

Dans ce contexte l'étude de la phase de germination constitue un des segments essentiels de la recherche scientifique, tant elle constitue une étape primordiale dans l'installation des cultures, la croissance des plantes et leur développement optimal. Dans cette phase, l'eau constitue un élément principal et déterminant dans le déroulement du processus de la germination des graines : le passage de la vie latente des graines desséchées à la vie active, est conditionné par une absorption massive de l'eau, dont la quantité et la qualité influent grandement la réalisation de ce processus.

Différents travaux ont démontré que le déficit hydrique constitue le principal stress qui réduit significativement le déroulement optimal de la germination. L'abaissement du potentiel du milieu de germination traduit une réduction prononcée de la prise d'eau par les graines en germination, caractérisée sur le plan morphologique par la percée des téguments par la radicule comme processus de croissance des cellules méristématiques radiculaires, où la turgescence constitue l'élément moteur de son déclenchement.

La compréhension des effets du déficit hydrique sur le comportement des variétés de blé dans les différentes phases de leur développement, en particulier dans la phase de germination, s'avère être d'une importance réelle.

A cet effet, nous avons tenté d'évaluer le comportement germinatif de deux variétés de blé dur, Béliouni et Waha, soumises à un stress hydrique imposé par l'utilisation du PEG-6000. Les essais réalisés, les résultats obtenus, leur évaluation à travers un certain nombre d'indicateurs et l'éclairage théorique de notre démarche ont été notés dans le présent mémoire, qui a été structuré en trois grands chapitres :

- ✓ **Le chapitre I**, où nous faisons une synthèse bibliographique mettant l'accent sur le matériel végétal objet de cette étude, l'impact du stress hydrique sur les plantes pendant la phase de germination et les mécanismes d'adaptation mise en place par les graines pour face à cette contrainte. Notamment les mécanismes moléculaires actifs, spécifiques du déficit hydrique, à l'échelle de gènes et protéines pour identifier ceux qui sont induits lors de ce stress et qui participent ainsi potentiellement aux réponses de la plante.

- ✓ **Le chapitre II**, aborde une description du matériel végétal, de l'expérimentation et des paramètres d'analyse choisis pour évaluer l'impact du stress hydrique infligé par le PEG -6000 sur les deux variétés de blé dur, et ses conséquences quant à la germination. Ainsi que la définition du mode d'analyse et de traitements des résultats des essais.
 - ✓ **Le chapitre III**, héberge la description des résultats obtenus ainsi que leur discussion, et une recherche in Silico des séquences qui permet de s'informer sur les caractéristiques fonctionnelles, structurales et évolutives des protéines WYRK impliquées dans la tolérance au stress hydrique.
- Pour finir le présent mémoire par une conclusion générale et des perspectives suivi d'une liste de références bibliographiques.

Chapitre I :
Revue bibliographique

1. Le blé dur

1.1. Généralité

Le blé fait partie des trois grandes céréales les plus populaires dans l'alimentation humaine avec le maïs et le riz. C'est la troisième espèce de par son importance en termes de récolte mondiale, la plus consommée par l'homme (FAO, 2020). C'est une monocotylédone qui appartient au genre de *Triticum* de la famille des Graminées, dont les deux espèces qui dominent la production sont : le blé tendre et le blé dur.

Le blé dur, une céréale très employée dans l'alimentation des larges couches de populations dans le monde, donne de la semoule pendant la mouture, produit valorisé dans la fabrication des pâtes alimentaires, mais aussi des pains et pâtes traditionnels dans les pays du Maghreb (comme la galette) (Feillet, 2000).

C'est une céréale riche en protéines, très appréciées, notamment chez les populations rurales, où le pain à base de blé dur est un composant fondamental du régime quotidien (El Hadeif El Kolli, 2015). C'est une variété de blé dont le grain, dur et vitreux, est cultivé depuis la Préhistoire.

1.2. Origine et répartition géographique

La culture du blé est une activité de l'homme qui remonte à près de 15.000 ans avant Jésus Christ, à une époque où l'homme pratiquait déjà la cueillette et faisait ses débuts comme agriculteur. Cette période coïncidait avec un épisode climatique sec, aboutissant à l'arrêt du mode de vie de «chasseur-cueilleur», et engendrant la domestication progressive des plantes, associée à la création des premières communautés villageoises (Wadley et Martin, 1993).

La plupart des recherches archéologiques ont confirmé que les origines du blé se situent dans le croissant fertile plus précisément au sud de l'Anatolie et au nord de la Syrie (Ouanzar, 2012) (Figure 1). La culture du blé a été diffusée, par la suite, vers l'Afrique, l'Asie et l'Europe à partir de cette région (Amrouche et Mesbah, 2017).

Par ailleurs, Gueorguiv et Arifi (1978), considèrent le Maghreb comme origine secondaire du blé.

Bonjean et Picard (1990) affirment, quant à eux, que l'empire romain a largement contribué à la diffusion des céréales du bassin méditerranéen vers l'Europe centrale et l'Europe de l'Ouest

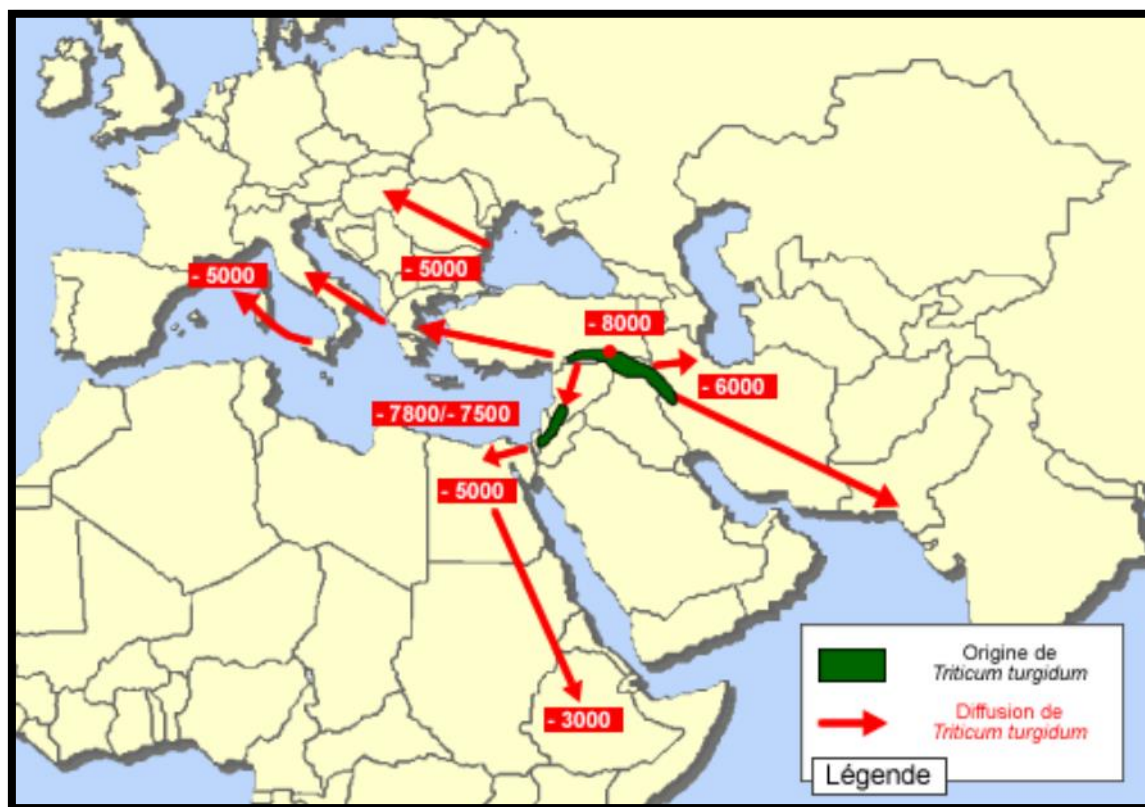


Figure 1 : Origine et diffusion de *Triticum turgidum* (Bonjean, 2001).

1.3. Origine génétique

La filiation génétique des blés est complexe et incomplètement élucidée. L'origine génétique du blé dur sauvage provient du croisement entre *Triticum monococcum* (porteur du génome A) et d'une graminée sauvage nommée *Aegilops speltoides* (porteuse du génome B). Ce dernier a ensuite progressivement évolué vers *T. turgidum* sp. *Dicocum* puis vers *T. durum* (blé dur cultivé) ; possédant un nombre total de chromosomes de $2n = 28$ (Levy et Feldman, 2002, Huang et al., 2002).

Le blé tendre, quant à lui, est une espèce hexaploïde possédant un génome de type AABBDD avec un nombre total de chromosomes de $2n = 42$. Il provient d'une hybridation

suivie par un doublement chromosomique entre *Triticumturgidum* (AA BB) et *Aegilops tauschii*(DD) (Levy et Feldman, 2002).

1.4. Classification botanique

Amira et Fadel (2013) ont mentionné dans leur mémoire de Master, que différentes classifications basées sur des critères morphologiques ont été proposées par de nombreux auteurs (Grignac, 1965, Monneveux, 1989), et que ce type de classification a eu le mérite d'orienter la recherche de gènes susceptibles d'intéresser le sélectionneur sur le plan des caractéristiques agronomiques tels que la résistance aux basses températures, la précocité et les grains gros et vitreux.

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

Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Monocotylédones
Ordre	Poales
Famille	Poaceae
Tribu	Triticeae
Genre	<i>Triticum</i>
Espèce	<i>Triticumdurum</i> Desf

1.5. Cycle de développement

1.5.1. Période végétative

Le cycle de croissance du blé se compose de plusieurs phases au cours desquelles la plante passe d'un stage végétatif à un autre et développe de nouveaux organes. Les étapes de cette croissance sont illustrées par la figure 2 ci-dessous :

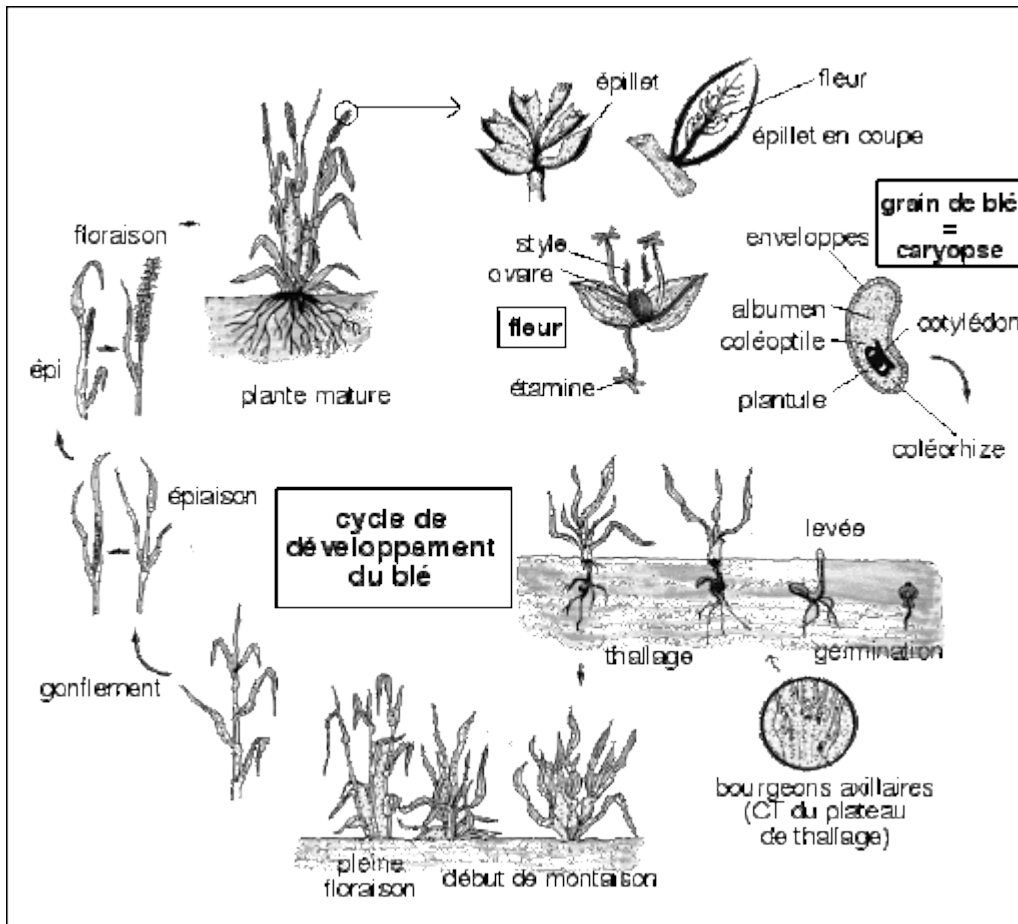


Figure 2 : Cycle de développement du blé (Henry *et al.*, 2000)

1.5.2. Période de germination

Le semis est le premier geste du cultivateur qui met les grains en terre, puis vient la germination qui voit le germe contenu dans la graine se développer au contact de l'humidité de la terre, le processus de germination commence dès que la graine sèche est hydratée. Le sol est percé par le coléoptile qui est un étui protecteur de la première feuille.

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

1.5.3. Période de levée et de tallage

La levée est notée quand 50% des plantes sont sorties de la terre. Pendant cette phase, les jeunes plantes sont sensibles au manque d'eau qui provoque une perte de ces végétaux. (Karou *et al.*, 1998).

La production des tallages commence à l'issue du développement de la troisième feuille. L'apparition de ces talles se fait à un rythme régulier égal à celui de l'émission des feuilles.

Ces talles primaires peuvent ensuite émettre des talles secondaires, lesquelles à leur tour émettent des talles tertiaires (Belaid, 1986; Gate, 1995). Cette étape marque la fin de la période végétative et le début de la phase reproductive, conditionnée par la photopériode et la vernalisation qui autorisent l'élongation des entre-nœuds. (Gate, 1995)

1.5.4. Période de reproduction

Cette période est caractérisée par : le stade de la montaison-gonflement, le stade épiaison -floraison et le stade remplissage du grain :

- ✓ La montaison-gonflement débute à la fin du tallage et se manifeste à partir du stade épi à 1 cm par élongation du premier entre-nœud. Elle s'achève à la fin de l'émission de la dernière feuille et des manifestations du gonflement que provoquent les épis dans la gaine.
- ✓ L'Épiaison- floraison : L'épiaison se manifeste lorsque les épis apparaissent à l'extérieur des tiges Les épis dégainés fleurissent généralement entre 4 à 8 jours après épiaison. (Bahlouli *et al.*, 2005)
- ✓ Le remplissage du grain : Geslin et Jonard (1948) mentionnent que cette phase se compose de trois étapes successives. La première est une phase de multiplication des cellules du jeune grain encore vert, dont la teneur en eau est élevée. Suit la phase de remplissage actif du grain avec les assimilés provenant de la photosynthèse de la feuille étendard et du transfert des hydrates de carbones non structuraux stockés dans le col de l'épi. La quantité d'eau contenue dans le grain tend à se stabiliser : c'est le pallier hydrique.

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

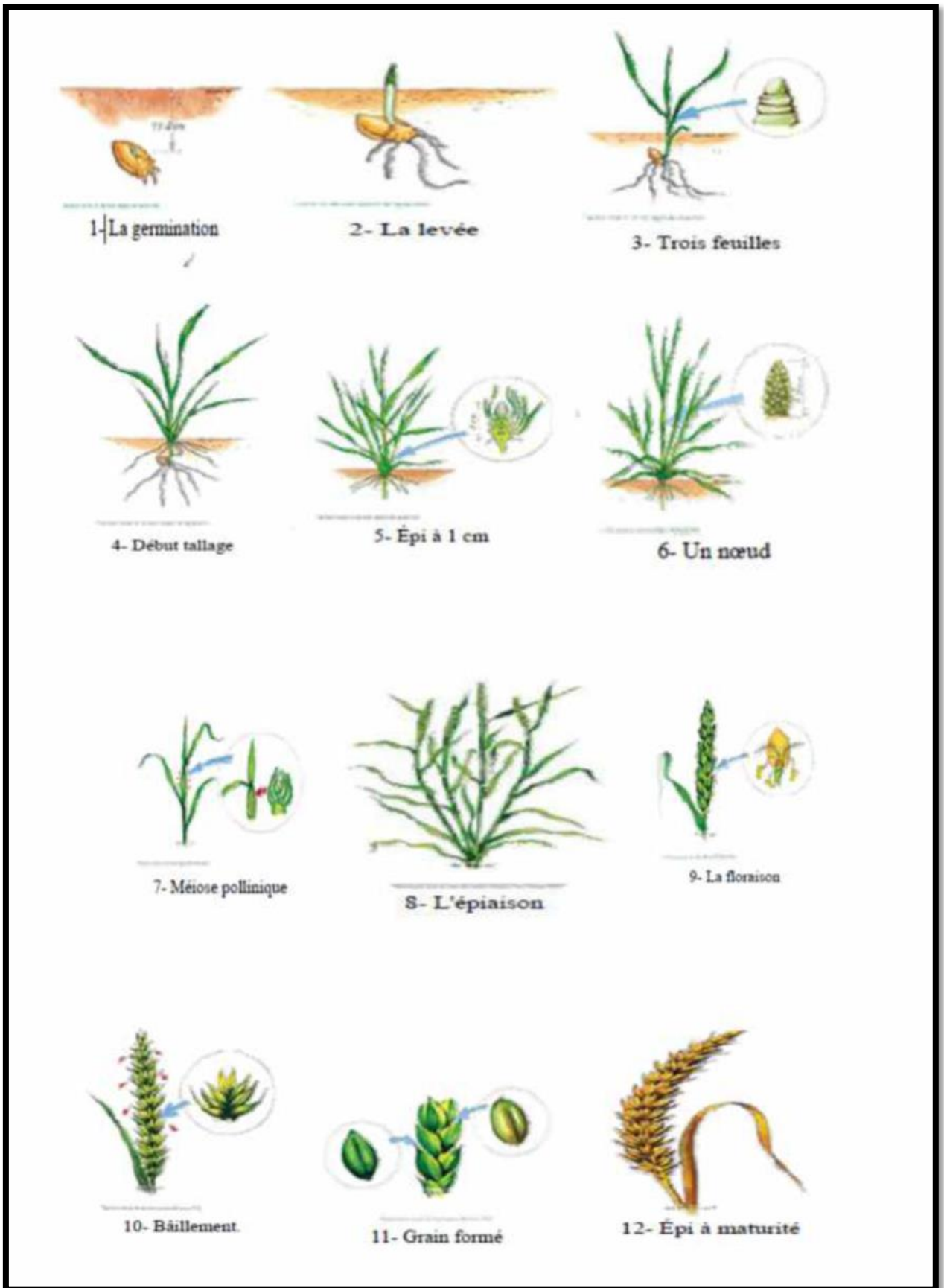


Figure 3 : Les différents stades de développement du blé (Ait Slimane et Ait Kaki, 2008).

2. La culture du blé dur et son importance

2.1. Dans le monde

Les céréales occupent à l'échelle mondiale une place primordiale dans le système agricole. Elles sont considérées comme une principale source de la nutrition humaine et animale (Slama *et al.*, 2005).

Parmi ces céréales, le blé occupe la deuxième place pour la production mondiale après le maïs et la première place avant le riz comme source de nourriture pour les populations humaines. (FAO, 2020).

La production mondiale moyenne des blés (dur et tendre) pour la période 2004-2010 est d'environ 640 millions de tonnes, soit 30% de la production céréalière total (blé, riz, orge, avoine, seigle, maïs, sorgho). Elle s'est élevée, selon le conseil international des céréales (IGC, 2018), en 2016/17 à 748 millions de tonnes et d'une production estimée pour la campagne agricole 2017/18 d'environ 763 millions de tonnes. Soit une augmentation notable.

2.2. En Algérie

La situation de l'Algérie caractérise par une production peu stable et une consommation de plus en plus importante. Il ya cependant de bonnes saisons céréalières, comme celle de 2018/19 où la production a été estimée à 3 millions de tonnes 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 (Dani, 2018).

Elle a été bien accueillie par les pouvoirs publics, car en matière de consommation, c'est l'un des pays du Maghreb où celle ci demeure essentielle pour l'alimentation de la population, avec une moyenne de consommation céréalière de 8 millions de tonnes par an dont plus de 5,5 millions tonnes de blé (Ammar,2014).

Mais de manière générale, la pluviométrie est globalement déficitaire, puisque dans les zones les plus emblavées en céréales, elle varie de 350 mm à550 mm (Hachemi *et al.*,1979).

Dans ces conditions, l'agriculture algérienne reste incapable de faire face à la croissance de la demande en blé, en raison des changements des habitudes alimentaires et à l'élévation des niveaux de vie de la population : avec plus de 203 kg /personne de consommation par an, le secteur agricole est structurellement inapte à la satisfaire (Boussard *et al* ; 2011).

En matière de superficie, les céréales occupent environ 3.3 millions d'hectares , soit près de 35% des terres arables, avec une production majoritairement dans le nord du pays , et aussi dans les zones semi – aride.(Ammar, 2014).

Le blé dur occupe le premier rang et est semé sur 1.2 millions d'hectares avec une production qui oscille entre 1.5 à 2.0 millions de tonnes. Cette production couvre 40% des besoins du pays, et représente 45% de la production totale des céréales. Le blé dur reste ainsi la céréale prépondérante en Algérie (Bentouati *et al.*, 2019).

Devant cette insuffisance de la production céréalière et l'impératif de réduire les volumes d'importation, les pouvoirs publics algériens se sont fixés comme objectif de porter la production céréalière à 70 millions de quintaux, avec notamment, l'extension des surfaces irriguées, l'intégration de la fertilisation, des semences certifiées et du renforcement de la mécanisation.(Sellami,2018).

3. La germination

3.1. Définition

Le processus de germination, qui débute dès que la graine sèche est hydratée et le sol percé par le coléoptile, est un phénomène naturel qui intervient dans des conditions favorables de température, d'oxygénation et d'obscurité (Bensaadi , 2011).

Elle est la première phase du développement d'une plante, dans laquelle la graine retourne à la vie active après une période de dormance.

Lors de la germination, l'embryon augmente dans le volume par le phénomène d'hydratation et l'utilisation des réserves qui dégagent progressivement les enveloppes qui l'entourent. La germination est régulée par des caractéristiques génotypiques mais aussi par les conditions liées au milieu.

3.2. Composition du grain du blé

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

Les enveloppes représentent 14 à 16 % du poids du grain. Elles sont constituées de l'extérieur vers l'intérieur par (figure 4) :

- Le péricarpe : parois de l'ovaire qui comprend l'épicarpe, le mésocarpe et l'endocarpe.
- Le tégument : enveloppe de la graine qui comprend le tégument séminal et la bande hyaline
- L'assise protéique : qui représente 60% du poids des enveloppes et constituée de cellules à aleurones, riches en protéines (Soltner , 1987).
- Le germe représente 2,5 à 3 % du grain et comprend :
- Le cotylédon ou scutellum, séparé de l'amande par une assise diastasiqne destinée à la digestion future de l'albumen au profit de la plantule.
- La plantule, avec sa gemmule recouverte d'un étui, le coléoptile, sa tigelle courte, et sa radicule, recouverte d'un étui, la coléorhize.
- Le germe est très riche en matières grasses, matières azotées et vitamines A, E et B.

L'albumen ou amande est composé de 70% d'amidon et de 7% de gluten. Chez le blé dur l'albumen est corné et vitreux, un peu comme celui du riz. L'albumen joue un rôle essentiel dans la composition de la semence ; il sert de réserve et ne sera complètement utilisé qu'au moment de la germination (Guergah, 1997).

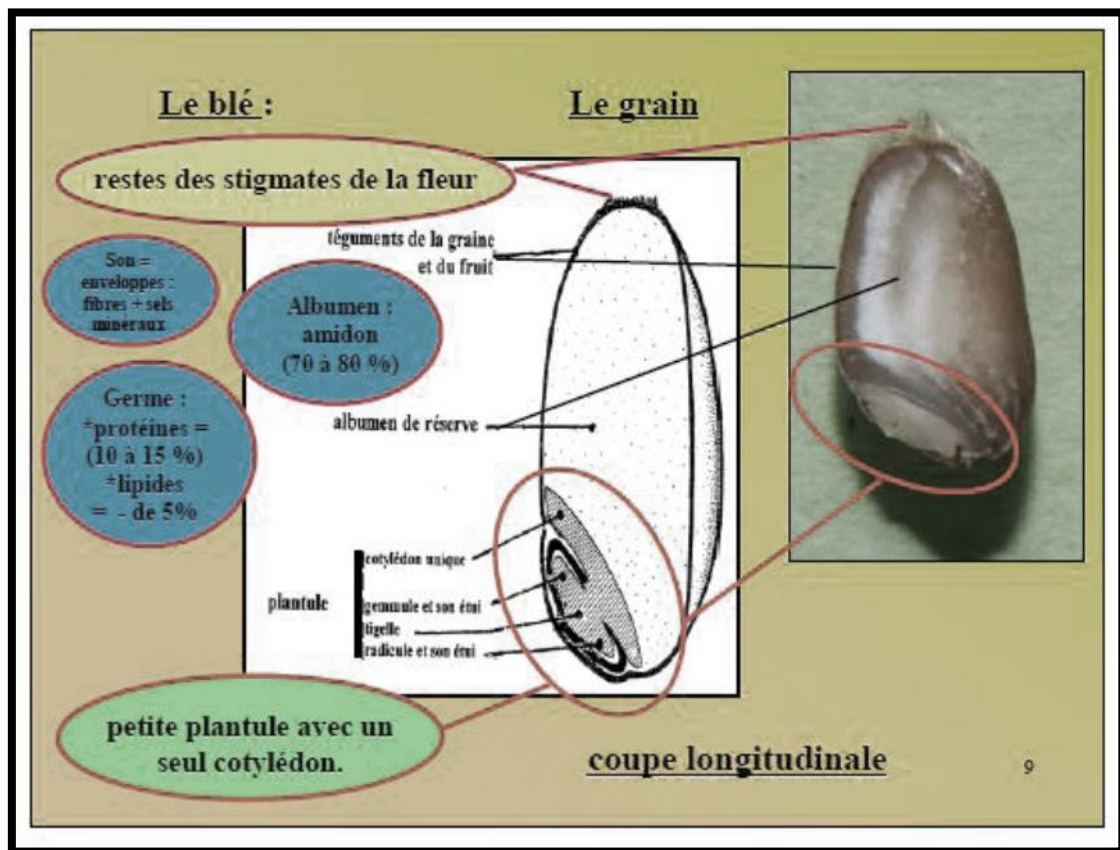


Figure 4: Coupe au niveau de grain du blé (Clerget, 2011).

3.3. Condition de germination

Pour qu'une graine puisse germer, elle doit répondre à de nombreuses conditions internes qui sont la maturité, c'est-à-dire que toutes les parties qui la constituent soient complètement différenciées morphologiquement, et aussi que son embryon soit prêt à croître pour former les racicules et plantules de la jeune plante, avec la disponibilité de l'amidon, des protéines, des lipides ou d'autres nutriments.

L'embryon doit subir le froid et/ou le gel pour lever sa dormance. Cette dormance embryonnaire est renforcée par l'inhibition tégumentaire. En effet, les téguments sont des « manteaux » de l'embryon qui le protègent des éléments extérieurs. D'après Mazliak (1982), les inhibitions tégumentaires se rencontrent chez les semences dont les enveloppes sont totalement imperméables ou pas suffisamment perméable à l'eau ou à l'oxygène, ou des enveloppes trop résistants pour que l'embryon puisse les rompre.

La qualité germinative d'une semence est fonction de son génome mais aussi de multiples facteurs regroupés en quatre catégories : les facteurs avant la récolte, les facteurs de la récolte, les facteurs après la récolte et les facteurs de la germination. Nous examinons ci-après les facteurs dits externes qui influencent la germination (Côme, 1993).

3.4. Les facteurs externes influençant la germination

La graine est imperméable mais grâce à la présence d'eau, les téguments deviennent perméables et l'eau pénètre, la germination ne peut avoir lieu que si en plus de l'eau, la température et l'oxygène sont assurées :

- L'eau joue un rôle important dans la croissance de la plante. Elle doit être disponible dans le milieu extérieure en quantité suffisante (Heller et *al.*, 2004). L'absorption de l'eau par la semence s'effectue par osmose, au travers du tégument qui lui-même plus au moins cellulosique en retient des quantités importantes (Bensaadi, 2011).
- Il existe pour chaque plante et chaque phase de végétation des températures minima, optima et maxima (Bensaadi, 2011). Une température supérieure à 0° C est exigée pour la germination. Cependant l'optimum de croissance se situe entre 20 et 26°. Un abaissement e la température, pendant l'hiver est indispensable à certaines variétés dite d'hiver, cette exigence conditionne la montaison et la mise à fleur.
- L'oxygène dissous dans l'eau d'imbibition est utilisé par l'embryon pour ces besoins métaboliques. La germination engage de nombreuses oxydations ; les semences germent dans l'eau courante seulement (Bensaadi , 2011).

3.5. Physiologie de la germination

La germination des graines comprend trois principales phases, selon la cinétique de sa prise d'eau et qui sont schématisées dans la figure 5 ci-dessous.

La Phase 1 :

Appelée phase d'imbibition, correspondant à une forte hydratation des tissus, accompagnée d'une élévation de l'intensité respiratoire (Heller et *al.*, 2004).

La graine de blé absorbe 50% de son poids de départ. L'imbibition est rapide et réversible) (Chaussat, 1999).

La Phase 2 :

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

Elle est caractérisée par une diminution de l'entrée d'eau, l'hydratation des tissus et des enzymes est totale. La consommation en oxygène est stable.

La Phase 3 :

Caractérisée par une reprise de l'absorption d'eau et une élévation de la consommation d'oxygène, puis très rapidement, on assiste à une reprise des divisions et agrandissement cellulaire. À ce stade, la déshydratation des tissus cause la mort de la semence, la germination est terminée lorsque la radicule émerge les téguments de la graine.

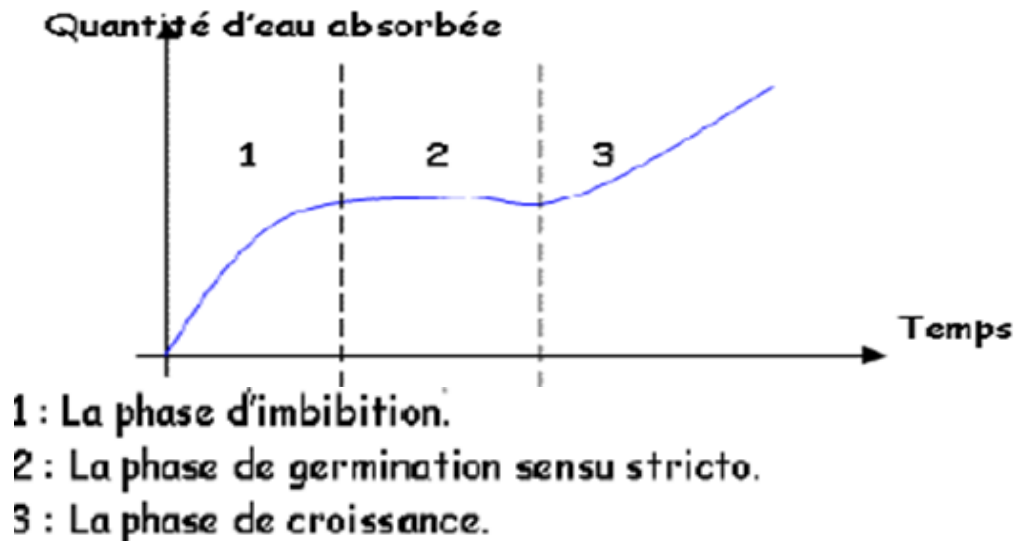


Figure. 5 : Courbe théorique de la germination. (Bensaadi, 2011)

4. Le stress hydrique

4.1. Notion de stress

Généralement on parle de stress, dans les manuels spécialisés, en désignant toute condition externe qui affecte la croissance, le développement ou la productivité d'une plante.

Selon ces définitions, le stress chez les plantes apparaît avec des significations différentes en biologie, qui convergent principalement en associant ce terme à n'importe quel facteur environnemental défavorable pour une plante (Levitt, 1982). La notion de stress correspond donc à un état physiologique modifié par des facteurs qui tendent à altérer l'équilibre initial.

Selon Jones et *al.*, (1989), un stress désigne à la fois l'action d'un agent agresseur et les réactions qu'il entraîne dans l'organisme agressé, une force qui tend à inhiber les systèmes normaux. Cet agent agresseur peut être les stress environnementaux, nés de la fluctuation des facteurs abiotiques (sécheresse, salinité, température) qui affectent les conditions de croissance, le développement et le rendement des plantes. (Madhava Rao et *al.*, 2006).

Pour résumer, il apparaît que le terme de stress est utilisé à la fois pour décrire le facteur qui induit une réaction des plantes et la réponse pouvant servir de signal à une cascade de réponses physiologiques.

4.2. Le stress hydrique

Le stress hydrique a été défini comme une baisse ou un excès de la disponibilité de l'eau dans le milieu d'installation de telle culture, traduisant par une réduction de la croissance de la plante et/ou de sa reproduction par rapport au potentiel du génotype. (Lamaze et al., 1994).

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

Généralement, la sécheresse du sol est lente mais la diminution de l'humidité de l'air peut parfois être rapide (Yokota et al., 2006). L'installation d'une sécheresse se manifeste par la combinaison d'une part, de la restriction de la disponibilité en eau du sol et, d'autre part, de l'augmentation de la demande évaporatoire (Kiani, 2007).

Le déficit hydrique, provoqué par une sécheresse, est une contrainte permanente de la production agricole. Dans de nombreux pays, 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. Cette sécheresse est l'une des principales causes naturelles de dégâts agricoles, économiques et environnementaux, et elle apparaît après une longue période sans précipitation (Ameur, 2011)

4.3. Les effets du stress hydrique sur la germination

Les stress abiotiques, notamment le stress hydrique, limitent sérieusement la croissance des plantes ainsi que la productivité végétale. Le déficit hydrique constitue un important facteur limitant pour la production des cultures céréalière dans les zones arides et semi-arides.

L'effet du stress dépend de son degré, de sa durée, du stade de développement de la plante, du génotype et son interaction avec l'environnement. Un déficit hydrique précoce affecte en parallèle la croissance des racines et des parties aériennes, le développement des feuilles et des organes reproducteurs (Debaeke et *al.*, 1996).

5. Mécanismes d'adaptation au stress hydrique

L'adaptation à la sécheresse est la capacité d'une plante à maintenir un rendement à travers des environnements où les périodes de sécheresse, leurs durées et leurs intensités sont fluctuantes. De ce fait, une réflexion sur les stratégies à entreprendre pour comprendre les mécanismes mis en jeu par les plantes afin de s'adapter aux conditions de l'environnement et de maintenir leur croissance et leur productivité s'impose (Hassani et *al.*, 2008)

Plusieurs auteurs ont constaté que, lors d'un déficit hydrique, les plantes adoptent des stratégies d'adaptation qui diffèrent d'une espèce à une autre et qui font intervenir une large combinaison de facteurs morphologiques, physiologiques et biochimiques (Hayak et *al.*, 2000, Zerrad et *al.*, 2008 ; El Fakhri et *al.*, 2010). Elles développent plusieurs stratégies adaptatives qui varient en fonction de l'espèce et des conditions du milieu (esquive, évitement et tolérance) (Turner, 1986).

5.1 L'esquive

L'esquive consiste à placer le cycle cultural pendant des périodes où la demande climatique est faible et/ou pluvieuses. La stratégie d'esquive la plus efficace consiste à éviter les cultures d'été. La demande climatique estivale est environ deux fois supérieure à celle du printemps. La quantité d'eau nécessaire pour garder les stomates ouverts est donc plus grande en été.

L'esquive consiste donc à réaliser le cycle pendant la période favorable en réduisant voire en annulant les effets du stress hydrique qui se produit au cours d'une phase sensible ou critique. L'esquive permet à certains génotypes d'échapper au stress en accomplissant leur cycle de développement en dehors des périodes de sécheresse.

La précocité chez les céréales en zones méditerranéennes est un mécanisme largement exploité par les agriculteurs. La précocité constitue un important mécanisme d'évitement au stress hydrique de fin de cycle, et assure une meilleure efficacité de l'utilisation de l'eau. (Ben Naceur et *al.*, 1999)

Mais il n'est pas sans présenter des inconvénients. De nombreux travaux ont montré l'existence d'une corrélation positive entre la longueur du cycle et le rendement potentiel. L'adoption d'une telle stratégie par l'utilisation de variétés précoces entraîne le sacrifice d'une part de la productivité.

5.2 L'évitement

L'évitement consiste à empêcher que la plante ne soit soumise à un stress hydrique important. D'un point de vue génétique, il s'agit des limitations de la surface foliaire et de la transpiration, et d'un développement favorisé du système racinaire.

Ce mécanisme permet de maintenir par divers stratégies un statut hydrique ou thermique élevé dans la plante lui permettant de maintenir un statut hydrique interne nécessaire à un fonctionnement plus ou moins normal des fonctions physiologiques sans trop grande perturbation. Il peut être obtenu en limitant la transpiration par la fermeture des stomates ou par le phénomène d'enroulement foliaire.

5.3 La tolérance

La tolérance permet à la plante de contenir les effets du stress qui s'installe en assurant des fonctions physiologiques à un rythme plus réduit que la normale grâce à l'abaissement du potentiel osmotique. Cette stratégie permet le maintien de la turgescence cellulaire grâce à une diminution du potentiel osmotique qui permet de compenser la baisse du potentiel hydrique foliaire. C'est le phénomène de l'ajustement osmotique (Morgan, 1983 ; Blum, 1989). L'ajustement osmotique permet une protection membranaire au niveau des organes jeunes surtout. Monneveux (1991) affirme que la tolérance à la déshydratation est l'aptitude plus ou moins grande du génotype à maintenir l'intégrité des structures membranaires et des fonctions physiologiques.

6. Les mécanismes moléculaires de la tolérance au stress hydrique

Il existe des mécanismes moléculaires actifs, spécifiques du déficit hydrique, qui sont mis en jeu à l'échelle de gènes et protéines. L'analyse des réponses au déficit hydrique au niveau de l'expression des gènes est réalisée depuis le début des années 2000 en suivant simultanément les variations d'accumulation de milliers de transcrits de ces gènes (transcriptome). Ceci a permis d'identifier des gènes qui sont induits lors d'un déficit hydrique et qui participent ainsi potentiellement aux réponses de la plante, et de les comparer à ceux induits lors d'autres types de stress comme les stress salin ou froid, ou à l'application d'hormones de stress sans le stress lui même (Rabbani et *al.*, 2003).

De plus une meilleure compréhension des mécanismes génétiques, qui sont à la base de la tolérance à la sécheresse, chez les plantes, est nécessaire pour développer des variétés plus adaptées et performantes.

6.1. Les gènes et les produits de gènes induits en cas de stress hydrique

Différentes études protéomiques menées sur la réponse aux stress abiotiques ont indiqué que le stress hydrique modifie l'abondance des protéines impliquées dans le métabolisme énergétique et glucidique, la détoxification cellulaire, la régulation de l'expression des gènes induits directement dans la réponse au stress, la régulation du signal de transduction et le renforcement de la paroi cellulaire.

Une partie des protéines induites a une fonction directe dans l'augmentation de la tolérance au stress (protéines fonctionnelles), d'autres à la production de protéines fonctionnelles (Schulze et *al.* (2005).

Comme la plupart des protéines à fonction directe impliquées dans l'assimilation et le transport de l'eau et des ions, telles que les aquaporines, ou les protéines impliquées dans la protection des membranes et les protéines de choc thermique « heat shock proteins» HSP, et les protéines LEA « late embryogenesis abundant » (Wang et *al.*, 2003)

Parmi ces protéines fonctionnelles figurent aussi les enzymes de détoxification qui protègent les cellules des effets négatifs des ROS (dérivés réactifs de l'oxygène ou espèces réactives de l'oxygène(en anglais : reactive oxygen species ou ROS) induites par le stress hydrique.

Nous en faisons une présentation succincte :

→ *Les aquaporines*

Les aquaporines sont des protéines membranaires intégrales qui servent de canaux pour le transport d'eau et de petits solutés, tels que le glycérol, à travers la membrane, Elles ont donc un rôle essentiel dans les mécanismes d'absorption et d'excrétion de l'eau ainsi que dans l'homéostasie cellulaire. (Verkman, 2005)

Chez l'*Arabidopsis thaliana*, il existerait au moins 35 aquaporines, induites par différents types de déficit hydrique, alors que d'autres sont réprimées par le déficit hydrique (Bartels and Sunkar, 2005).

→ *Les protéases:*

Les protéases correspondent à des enzymes qui catalysent les coupures des liaisons peptidiques entraînant ainsi une dégradation des protéines. Une augmentation de la protéolyse lors d'un déficit hydrique permet d'éliminer les protéines endommagées par le déficit en eau et les ROS. (Bartels et Sunkar, 2005).

→ *Les protéines HSP (Heat Shock Proteins)*

Pendant les stress, de nombreuses protéines subissent des modifications structurales et des changements fonctionnels. Il est par conséquent très important, pour la survie de la cellule soumise à un stress, de maintenir ces protéines dans une conformation fonctionnelle, d'éviter l'agrégation de protéines dénaturées et d'éliminer les polypeptides non fonctionnels et potentiellement dangereux.

Les protéines HSP pour 'heat shock proteins' sont une classe de protéines chaperonnes « protéines de choc thermique » qui protègent les cellules de l'effet d'un stress. Elles sont produites dans des conditions stressantes et évitent des interactions indésirables entre protéines. Elles permettent ainsi une protection des plantes lors de stress par un rétablissement de la conformation initiale des protéines et de l'homéostasie cellulaire (Wang et al., 2004).

→ *Les protéines LEA (Late Embryogenesis Abundant)*

Les protéines LEA (Late Embryogenesis Abundant) ont été découvertes dans les graines de blé et d'autres espèces, ainsi que dans les tissus végétatifs, en particulier en réponse à des stress abiotiques, tels que la sécheresse. Les protéines LEA ont été initialement découvertes en raison de leur accumulation tardive (phase de maturation) au cours de l'embryogénèse des graines de coton (Dure and Galau, 1981).

Selon Goyal et *al.*, (2005) et Grelet et *al.*, 2005), ces protéines auraient plusieurs fonctions :

- En raison de leur absence de structure secondaire et de leur nature hydrophile, les protéines LEA auraient une fonction protectrice car elles diminueraient l'agrégation de polypeptides partiellement dénaturés produits en condition de stress.
- Etant hydrophiles, les protéines LEA sont également capables de fixer des molécules d'eau et pourraient donc avoir un rôle de tampon d'hydratation en ralentissant la perte en eau.
- Les protéines LEA pourraient aussi assurer une stabilisation stérique dans la mesure où elles peuvent se positionner à différents endroits de la cellule et s'associer aux membranes. Elles agiraient alors comme un tampon mécanique, évitant une diminution trop importante de la taille des cellules par une stabilisation membranaire

→ *La détoxification:*

Les dérivés réactifs de l'oxygène ou espèces réactives de l'oxygène (en anglais : reactive oxygen species ou ROS), sont fortement induites en réponse à divers stress chez les plantes et possèdent des effets délétères sur les structures biologiques, et causent des dommages aux protéines, lipides, glucides et de l'ADN (Xiong et al., 2002).

Leur élimination est principalement réalisée par des composés antioxydants, tels que les caroténoïdes, et l'acide ascorbique, et par des enzymes permettant une élimination des ROS.

→ *Les osmolytes*

L'ajustement osmotique constitue le processus majeur permettant à la cellule de maintenir sa turgescence sous contrainte hydrique (Zhang *et al.*, 1999, Abebe *et al.*, 2003). L'ajustement osmotique est réalisé grâce à une accumulation des solutés (principalement vacuolaire) conduisant à un maintien du potentiel de turgescence. Les solutés responsables de la régulation osmotique sont essentiellement des acides organiques, des acides aminés (proline, glycine-bétaine), des sucres solubles et certains constituants inorganiques (Richards *et al.*, 1997). Les plantes maintiennent ainsi la turgescence de leurs cellules grâce à l'accumulation contrôlée de composés organiques appelés osmoprotectants, ou osmolytes qui sont des composés solubles, non chargés à pH neutre et compatibles, même à forte concentration avec les fonctions métaboliques. Ils permettent également une stabilisation des protéines et des membranes cellulaires contre l'effet de dénaturation engendré par le stress sur des fonctions cellulaires.

6.2. Activation transcriptionnelle des gènes

6.2.1. Les Facteurs de Transcription

Un facteur de transcription (FT) est une protéine qui se fixe sur une séquence spécifique de l'ADN. Il contrôle le flux (la vitesse) de la transcription d'un gène.

Les FT régulent la transcription seul ou sous forme de complexe avec d'autres protéines : ils activent ou inhibent le recrutement de l'ARN polymérase sur des gènes spécifiques. Les FT sont présents chez tous les organismes vivants.

Les facteurs de transcription sont des protéines qui se lient aux éléments-*cis* du DNA, dans une position spécifique de manière à orienter l'ARN-polymérase dans la transcription des mRNA à partir de la séquence génomique correspondante. Les éléments *cis* sont localisés près du promoteur et constituent des sites de liaisons pour les facteurs de transcription nécessaires à l'initiation de la transcription (Liu *et al.*, 1999).

6.2.2. Les facteurs de transcriptions WRKY

La famille de facteurs de transcription de type *WRKY* se caractérise par une séquence de 60 acides aminés hautement conservée. (Eulgem *et al.*, 2000).

Le domaine *WRKY* contient une séquence fixe WRKYGQK suivie par Cys2His2 ou Cys2HisCys zinc-binding motif. Ces protéines se lient spécifiquement à la séquence de l'élément-*cis* de type W-Box [(T)TGCA(C/T)]. Soixante quatorze facteurs de transcription *WRKY* (*AtWRKY1* à *AtWRKY74*) ont été identifiés chez *Arabidopsis* (Eulgem *et al.* 2000).

Les facteurs *WRKY* ont été étudiés surtout dans la réponse génique aux maladies. Les *WRKY* sont également impliqués dans la réponse aux stress abiotiques (Mare *et al.*, 2004). Chez l'*Arabidopsis*, l'analyse des microarrays montre la présence des *WRKY* induite par la sécheresse, le froid, la salinité et les stress oxydatifs (Rizhsky *et al.*, 2004). Il a également été démontré que les facteurs de transcription *WRKY* sont impliqués dans d'autres phénomènes biologiques. L'expression de certains gènes est régulée en réponse aux stress abiotiques : par la blessure, les conditions de température ou/et d'humidité (Marè *et al.*, 2004), la dormance.

Dans son étude d'une famille de facteurs de transcription, les protéines *WRKY*, Marchive, (2006) a déterminé que ces protéines ont joué un rôle important dans la régulation des mécanismes de défense des plantes, notamment la Vigne, objet de cette étude.

6.2.3. Analyses de l'expression des gènes, techniques et méthodes

Des techniques et méthodes expérimentales sont mises en œuvre pour comprendre les mécanismes cellulaires qui sont à la base des modifications, lorsque les plantes sont soumises à un stress, notamment le stress hydrique. Cette analyse est un moyen de mettre en évidence des gènes ou des protéines « candidats », dont la variation d'expression pourrait être la cause des variations phénotypiques entre les génotypes analysés.

Nous en citerons quelques unes parmi les plus significatives:

-La PCR en temps réel, a connu un essor considérable en raison de sa simplicité de mise en œuvre et de la publicité importante qui a été faite sur sa précision et sa sensibilité (Pascal et Martin, 2007). Elle est considérée par de nombreux chercheurs comme la technique de

référence de mesure de l'expression des gènes, de loin, la technique à bas débit la plus rapide à réaliser et à sensibilité meilleure.

-**Les puces à ADN**, dont le concept date de 1987, est une méthode révolutionnaire pour identifier et doser les constituants d'un mélange complexe d'ADN ou d'ARN grâce à l'hybridation en parallèle sur une centaine de milliers de microsursaces greffées avec des sondes. Le développement industriel des puces ADN repose sur la combinaison des techniques de la microélectronique, de la chimie, de la biologie moléculaire et de l'informatique. Leurs applications concernent tous les domaines de la génétique médicale, du séquençage des génomes, à la recherche de mutations responsables de maladies génétiques et au développement de nouveaux médicaments (Bellis et Casellas, 1997)

Lorsqu'un échantillon inconnu est introduit, il se lie aux séquences complémentaires, il suffit alors de repérer –par fluorescence, radioactivité ou par une autre interaction- dans quelles cases l'union a lieu pour connaître quels gènes sont exprimés dans les cellules étudiées (Berber, 2002)

- **La bioinformatique** est un outil créé suite aux avancées de la biologie, des mathématiques de l'informatique et constitue une branche nouvelle de la biologie en donnant lieu à l'approche *in silico*. Cette approche complète donc les approches classiques *in situ* (dans le milieu naturel), *in vivo* (dans l'organisme vivant) et *in vitro* (en éprouvette) de la biologie traditionnelle.

La bioinformatique reprend tous les thèmes de l'informatique : l'acquisition, l'organisation de l'information, l'analyse, la visualisation, la modélisation, ... pour les appliquer à la génomique. La bioinformatique s'est définitivement imposée avec les programmes d'analyse de génomes. (Gallezot, 2002).

Elle propose des méthodes et des logiciels permettant, notamment:

- Le recueil, le stockage et la gestion des données biologiques et leur distribution à travers les réseaux.
- Les études phylogénétiques et l'évolution moléculaire des êtres vivants.

- Le développement des outils pour analyser les problèmes de biologie moléculaire.
- La modélisation et la prédiction de la fonction des protéines.

Les banques de données biologiques, des bases de données contenant des informations biologiques et des données de séquences diffusées par le réseau internet. généralement reliées entre elles par des liens, links, ou de cross références (Coutouly et al., 2012), à l'exemple de la recherche de protéine par GENBANK, une banque de données.

Chapitre II :
Matériel et Méthodes

1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est composé de deux variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.) : Beliouni et Waha. Ces dernières ont été gracieusement fournis par l'Institut Technique des Grandes Cultures (ITGC) d'EL-Khroub Constantine :

- La variété Beliouni (Figure 6), est très célèbre en Algérie et a une bonne réputation pour sa rusticité et ses rendements. Elle a été sélectionnée dans les années 1920 à partir de la variété botanique de *Triticum durum* Desf. Var. *erythromelanKörn*. C'est une des variétés les plus appréciées comme végétal rustique caractérisé par sa bonne adaptation et sa tolérance au stress hydrique, et aussi ses rendements jugés stables (Boufenar – Zaghouane et Zaghouane, 2006)
- La variété Waha (Figure 6) a été obtenue par l'ICARDA (International Center of Agriculture Research in the Dry Areas) en Syrie, et dénommée « SHAM1 ». Elle a été introduite en Algérie depuis 1975, et des sélections y ont été faites pour l'adapter aux conditions de climat et de l'environnement locaux. Semi-précoce et semi-naine, elle est caractérisée par son tallage fort, sa tolérance au froid, et sa moyenne tolérance à la sécheresse. Elle donne aussi une bonne stabilité du rendement (Boufenar – Zaghouane et Zaghouane, 2006)



Figure 6: Photographie des graines des deux variétés de blé dur utilisées dans l'étude (Beliouni et Waha).

2. Mise en place de l'essai : Application du stress hydrique et stade de mesure

L'expérimentation a été conduite au laboratoire de Génétique Biochimie et de Biotechnologie Végétale (GBBV) (équipe IV : Physiologie Moléculaire et Biodiversité des Plantes) à Chaabat Er Rasses, Université Frères Mentouri Constantine1.

Notre étude fut scindée en deux parties : la première consiste à analyser l'effet d'une contrainte hydrique au stade germination. Le stress hydrique a été appliqué en ayant recours à cinq traitements de PEG-6000 dont les concentrations vont de 0 à 20%. La deuxième partie consiste en une étude *in silico* de quelques gènes codant pour des facteurs de transcription appartenant à la famille WYRK.

Ayant une masse molaire de 6000, le PEG, du même poids moléculaire, a été choisi afin de simuler l'effet d'un stress hydrique, car il constitue un agent relativement stable, inerte, non ionique, bien que soluble dans l'eau et non toxique, même à de fortes concentrations (Jaouadi et *al.*, 2010).

C'est un agent osmotique abaissant le potentiel du milieu d'une manière relativement contrôlée, semblable à un séchage du sol. Il est donc utilisé pour induire un déficit hydrique car il réduit la disponibilité en eau sans causer de dommage physique aux plantes.

Les graines des deux génotypes ont été stérilisées et désinfectées à l'aide d'une solution d'eau de javel (hypochlorite de sodium à 5%) pendant 15 minutes puis rincées cinq fois à l'eau distillée pour éliminer toute trace de chlore. Les graines sont ensuite mises dans des boîtes tapissées de deux couches de papier absorbant humecté à l'eau distillée pour les témoins (0%) et de la solution de PEG appropriée (5, 10, 15 et 20%). 5 ml de chaque solution ont été ajoutés à chaque boîte de Pétri, chaque 48 h pour une durée de huit jours (figure 7). Les boîtes sont mises à l'obscurité à une température de $23^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$. La germination est repérée par la sortie de la radicule hors des téguments de la graine dont la longueur est d'au moins de 2 mm.



Figure 7 : Dispositif utilisé pour la germination.

3. Paramètres étudiés

3.1. Taux de germination final (G, %)

Ce paramètre permet d'analyser la capacité germinative des géotypes de blé dur étudiés. Il est exprimé par le rapport nombre de graines germées sur le nombre total de graines, soit le pourcentage définitif de germination (G%). Une graine est considérée germée lorsqu'elle présente sa radicule est visible après percée des téguments.

Il est déterminé par la formule de Côme (1970) : $G (\%) = 100(NGG / NTG)$

G (%) représente le pourcentage de germination ;

NGG représente le nombre de graines germées ;

NTG représente le nombre total de graines incubées.

3.2. Cinétique de germination (CG, %)

La cinétique de germination est calculée par le nombre de graine germées à 24, 48, 72, 96, 120, 144, et 168 h après le début de l'expérience, rapportées au nombre de graines mises en germination (Hajlaoui et *al.*, 2007) :

$CG(\%) = 100(\text{Nombre de graines germées à TN} / NTG)$

TN= à 24, 48,, 168h.

Elle permet de mieux déterminer la signification physiologique du comportement germinatif des variétés de blé dur étudiées, soumises aux divers stress hydrique provoqués par les quatre solutions de PEG.

3.3. Germination moyenne journalière (MDG, %)

La moyenne journalière de germination a été calculée en utilisant la formule suivante :

MDG (%) = Pourcentage de germination finale / nombre de jours à la germination finale. (Osborne et al, 1993)

3.4. Promptness Index (PI)

$$P.I = nd2 (1.00) + nd4(0.75) + nd6(0.5) + nd8(0.25)$$

Où « n » correspond au nombre de graines germées au jour « d » (par exemple le nd2 = nombre de graines germées au deuxième jour).

3.5. Indice de la tolérance au stress de la germination (IT)

$$I.T = (P.I. \text{ of stressed seeds} / P.I. \text{ control seeds}) \times 100$$

Il est destiné à déterminer la tolérance des génotypes au stress hydrique. Il a été observé que les plantes tolérantes ont un indice de tolérance plus élevé que les plantes sensibles (Amouri et al., 2015).

3.6. Longueur racinaire (LR, cm)

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

3.7. Nombre des racines (NBR)

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

3.8. Longueur de la coléoptile (LC, cm)

La longueur des coléoptiles est mesurée à partir de la graine jusqu'à la sortie de la première vraie feuille. Elle permet d'évaluer la croissance de la plante sous l'effet du stress provoqué par les différentes solutions de PEG (Simmons et *al.*, 1995).

3.9. Longueur des feuilles (LF, cm)

Selon Debaeke et *al.*, (1996) Le stress hydrique précoce affecte en parallèle la croissance des racines et des parties aériennes, le développement des feuilles et des organes reproducteurs.

La mesure de la longueur des feuilles, sous condition de stress, est un bon indicateur de l'impact de celui-ci sur la croissance et le développement des feuilles. Elle est mesurée à l'aide d'une réglette, en cm.

Pour Djekoun et Ykhlef (1996) la régulation de l'état hydrique des parties aériennes de la plante se fait par la fermeture des stomates qui déclenche, notamment, 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.

3.10. Surface foliaire (SF, cm²)

La surface foliaire est déduite par la formule

$$SF \text{ (cm}^2\text{)} = 0.606 \text{ (L} \times \text{l)}$$

Où L = longueur des feuilles et l= largeur des feuilles et 0,606 coefficient constant

La surface foliaire est un déterminisme important de la transpiration. Une des premières réactions des plantes au déficit hydrique est de réduire la surface foliaire. La diminution de la surface foliaire des feuilles et du nombre de talles est considérée comme une réponse ou adaptation au manque d'eau (Blum, 1996).

Chez le blé, l'enroulement des feuilles chez certaines variétés peut être considéré comme un indicateur de perte de turgescence en même temps qu'un caractère d'évitement de la déshydratation, il entraîne une diminution de 40 à 60 % de la transpiration (Amokrane et *al.*, 2002).

3.11. Ratio longueur racinaire/longueur foliaire (LR/LF)

Le rapport longueur racinaire sur la longueur foliaire (LR/LF) (Kouakou et *al.*, 2008), permet de constater que la diminution de la croissance de la partie aérienne peut s'accompagner d'une réduction au niveau de la production racinaire. Le stress hydrique retarde ainsi le cycle de développement des plantes, en diminuant la longueur des feuilles et celle des racines (Thakur et Rai, 1982).

4. Recherche de gènes codant pour les facteurs de transcriptions WYRK dans GENBANK

La recherche de gènes améliore les connaissances sur les fonctions et les voies impliquées dans la réponse de la plante au stress hydrique. Les séquences nucléotidiques correspondant aux gènes WYRK de l'espèce du blé dur, seront identifiées via GenBank, une banque de données par le National Centre for Biotechnology Information (NCBI). La recherche de gènes permet d'améliorer les connaissances sur les fonctions et les voies impliquées dans la réponse de la plante au stress hydrique (Chaumeil, 2006).

Sur ce site la recherche nucléotidique s'effectue suivant la démarche suivante :

- A l'aide du moteur de recherche intégré, on recherche la séquence d'ADN souhaitée (pour rechercher un gène, sélectionner la catégorie gène dans le bandeau de recherche),
- On Sélectionne le gène, et visualise la structure du gène ;
- On Fait, ensuite, apparaître la séquence d'intérêt: on utilise le lien FASTA pour faire apparaître la séquence du gène ;
- On Trouve l'ARNm correspondant à la séquence du gène ;
- On Utilise le lien GENBANK pour faire apparaître les informations sur le gène ;
- On Trouve la ligne mRNA et cliquer sur le numéro de référence du gène.
- On Utilise le lien GRAPHICS pour faire apparaître la carte génétique et voir les exons (voir figure 8 ci après).

5. Analyse et traitement des données

Afin de pouvoir caractériser les différences existant entre les variétés étudiées concernant les différents paramètres mesurés, les moyennes ainsi que l'analyse de la

Chapitre III :
Résultats et discussion

1. Effet du stress hydrique sur les paramètres de la germination

L'impact des stress hydrique sur le comportement germinatif des deux variétés de blé dur, objets de notre essai, peut être considéré comme un bon indicateur pour apprécier de ce processus de germination en milieu soumis à ce stress. Pour évaluer cet impact, il a été retenu un ensemble d'indicateurs que l'on a relevé en condition d'absence de contrainte et en condition de stress hydrique provoqué par des solutions dosées à divers taux de PEG 6000.

Voici les principaux résultats obtenus :

1.1. Taux de germination finale (G, %)

Ainsi le taux de germination, rapporté dans les figures ci après, indiquent que le pourcentage de germination des deux variétés de blé dur est variable en fonction de la concentration de PEG imposée et de la variété de blé dur elle-même. Globalement, en l'absence de stress, dans une solution témoin d'eau distillée, l'ensemble des graines testées ont germé en totalité, en atteignant les 100 %, aussi bien pour la variété Belioni que la variété Waha. Pour les solutions soumises au PEG, nous avons relevé les résultats suivants pour chacune de deux variétés :

1.1.1. Taux de germination finale pour le blé dur Béliouni

On constate que la germination du génotype Béliouni a été décroissante avec un taux allant de 100%(dans la solution témoin), pour atteindre 71% pour le stress le plus sévère (Solution PEG 20%). La régression de la germination a été de 12%(Solution PEG 5%), puis de 20% (Solution PEG 10%) et 24% (solution PEG 15%), pour finir à une régression de 29% pour le stress le plus sévère provoqué par la solution PEG 20%.

Le tableau ci-après nous en donne un aperçu :

Tableau 2 : Evolution du taux moyens de germination finale du génotype Béliouni suivant les solutions provoquant le stress hydrique.(\pm écarts types (n=3).

Solution(S)	S.Témoin	S.PEG5%	S.PEG10%	S.PEG15%	S.PEG20%
G (%)	100	88	80	78	71

1.1.2. Taux de germination finale pour le blé dur Waha

Le tableau ci-dessous montre la régression du taux de germination finale de la variété Waha, selon le taux de PEG dans la solution, est légèrement plus marquée pour ce génotype. Elle traduit sa sensibilité plus grande que Béliouni, au stress hydrique. Le tableau ci après nous permet de l'apprécier :

Tableau 3 : Evolution du taux de germination finale du génotype WAHA suivant les solutions provoquant le stress hydrique (valeurs moyennes, \pm écarts types (n=3)).

Solution(S)	S.Témoin	S.PEG5%	S.PEG10%	S.PEG15%	S.PEG20%
G (%)	100	86	76	73	66

1.1.3. Comparaison du taux de germination finale des deux génotypes

Cette comparaison permet de noter que le génotype Béliouni paraît plus résistant au stress hydrique que Waha, l'écart va de plus en plus grand avec un stress plus sévère selon la dosage PEG qui le provoque. Une exposition à un stress modéré, en présence de 5% ou 10% de PEG-6000, donne des valeurs qui varient respectivement entre 88% et 80% pour la variété Beliouni et 86 % et 76% pour la variété Waha.

A noter qu'elles semblent être plus grandes que celles observées en présence d'un stress hydrique plus sévère (15% ou 20% de PEG -6000). La baisse est donc plus importante pour ces deux solutions, avec des taux respectifs de 76% et 71% chez la variété Béliouni, et de 73 et 66% chez le génotype Waha.(Figure 09)

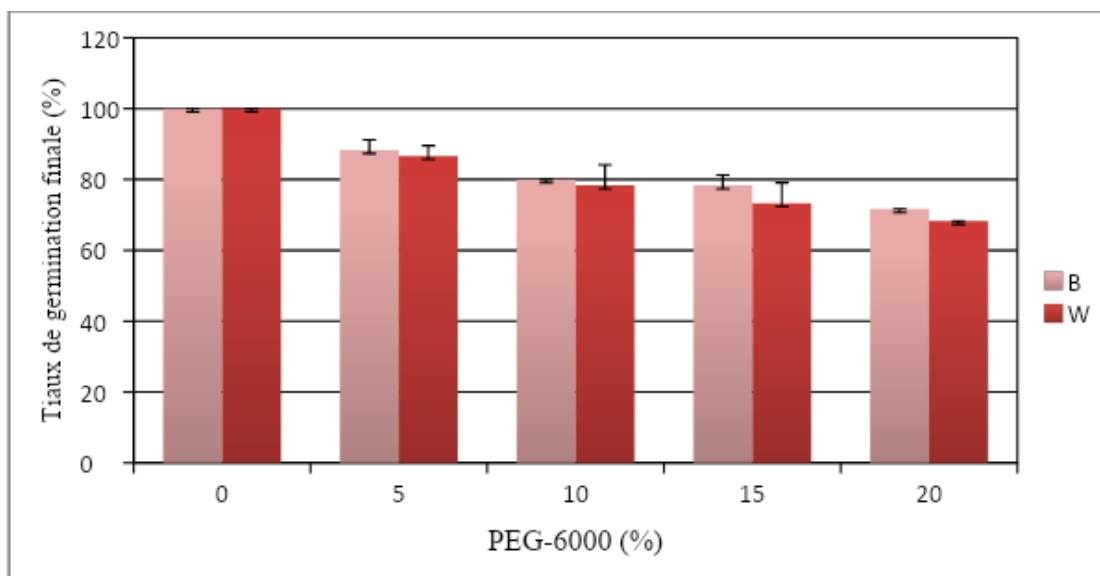


Figure 9 : Représentation en histogramme des taux moyens de germination finale des deux variétés (\pm écarts types (n=3)).

1.2. Indice de la tolérance (IT)

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

Comme on peut le constater sur le tableau n°4 ci-dessous, le génotype Béliouni confirme sa plus grande capacité à mieux tolérer le stress hydrique que le génotype Waha. Si l'indice de tolérance(IT) est le même pour les deux génotypes sous condition de contrôle, il varie de manière différente sous condition de stress, avec une tolérance meilleure pour la variété Béliouni, la baisse de l'Indice étant relativement plus importante pour la variété Waha.

Tableau 4 : IT des deux variétés de blé dur objet de l'essai(\pm écarts types-n=0,06)

	S. Témoin	S.PEG5%	S.PEG10%	S.PEG15%	S.PEG20%
Béliouni	1	0,88	0,80	0,76	0,71
Waha	1	0,86	0,76	0,73	0,66

1.3. Cinétique de germination (CG, %)

Il s'agit de calculer la vitesse de germination sous les différentes concentrations d'osmoticums utilisés pour imposer le stress. Elle est exprimée par le nombre de graines germées à 24, 48, 72, 96, 120, 144 et 168 h après le début de l'expérience. Celui ci a été calculé comme une moyenne des trois boites de germination pour chaque solution (témoin ou avec le PEG au taux indiqué lors de l'essai).

1.3.1. Cinétique de germination du génotype Béliouni (CG, %)

La lecture de la figure 10 nous permet de noter que la germination du génotype Béliouni a connu une évolution rapide et complète au bout du 3^{ème} jour de mise en germination dans une solution témoin. Cependant cette germination a connu des ralentissements dans les solutions stressés au PEG-6000.

Ainsi la germination a atteint le taux de 90% au bout du 4^{ème} jour, dans la solution PEG 5%, alors qu'elle s'est arrêtée au taux de 80% au bout du 4^{ème} jour, pour descendre à 71,66% au 7^{ème} jour dans la solution PEG 20%.

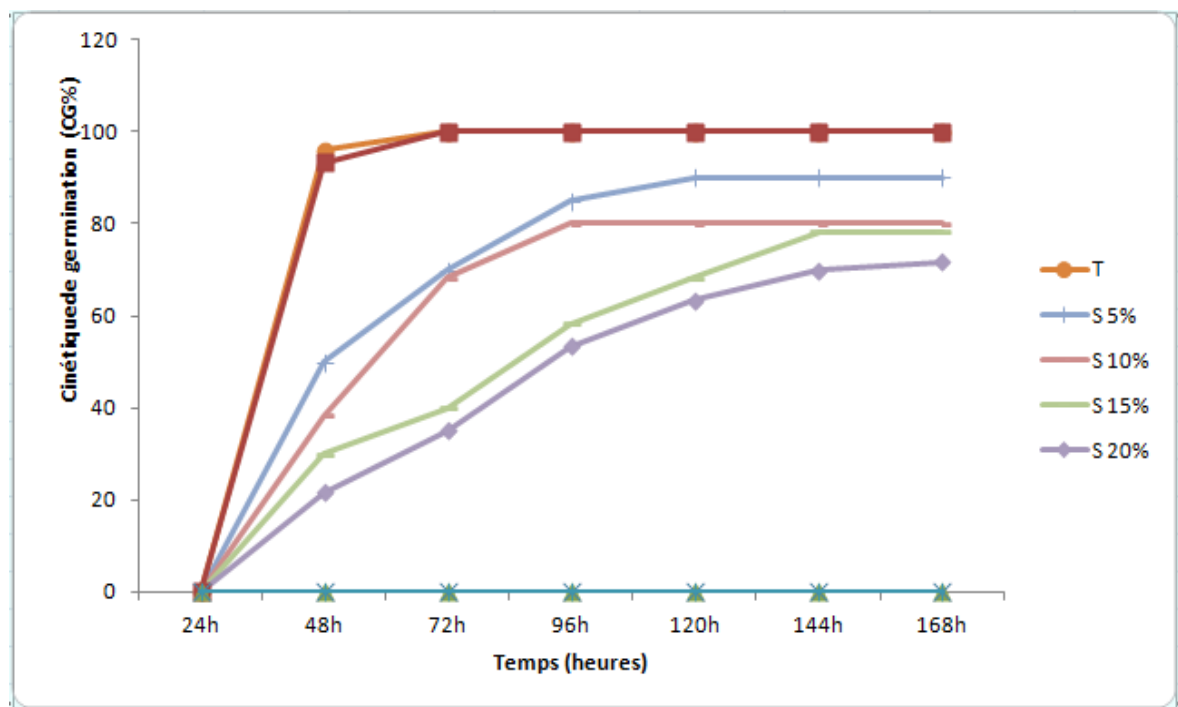


Figure 10 : Courbes de la cinétique de germination du génotype Béliouni

1.3.2. Cinétique de germination du géotype Waha (CG, %)

Le stress hydrique a causé une augmentation du temps nécessaire pour la germination chez le lot de graines de la variété Waha. En condition standard, le géotype a enregistré une germination quasi maximale après seulement 3 jours de mise en incubation. Mais l'application du stress a rallongé le temps de germination. Une durée qui varie en fonction PEG-6000. (5^{ème} jour pour la solution EPG 5%, 6^{ème} jour pour la solution PEG 10% ,15% et 20%), comme on peut le voir sur la figure 11 ci-dessous.

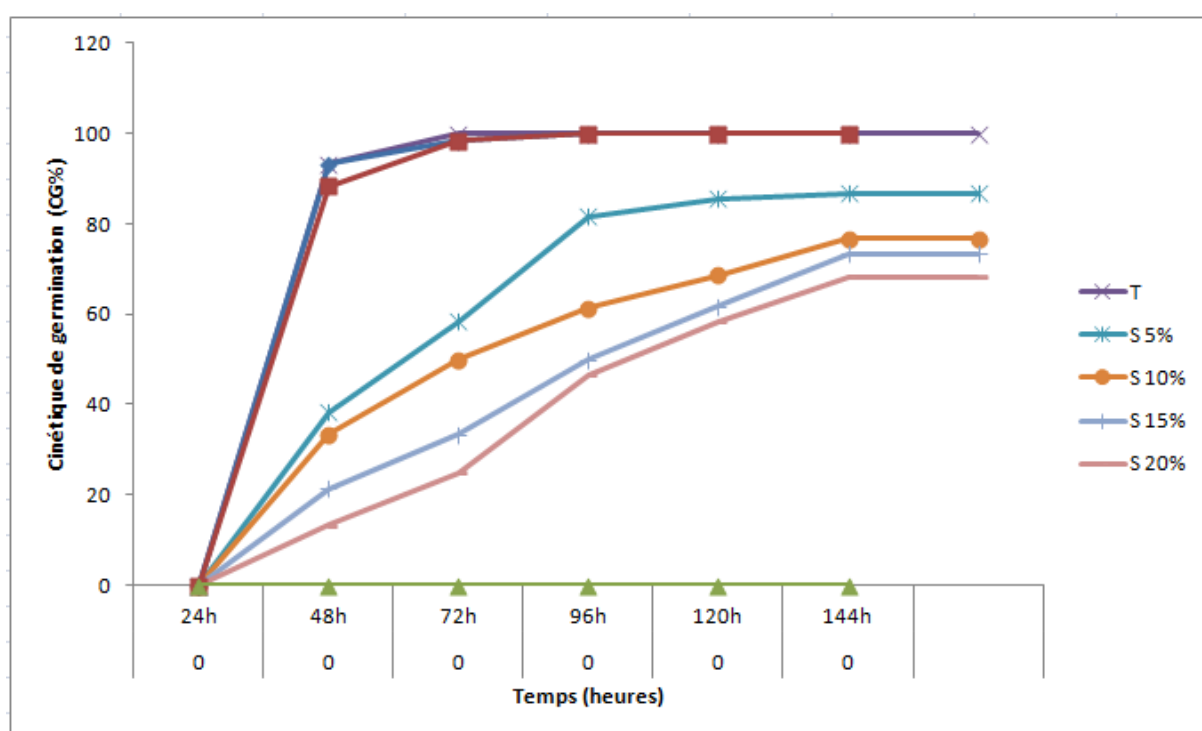


Figure 11 : Courbes de la cinétique de germination du géotype Waha

1.3.3. Comparaison de la cinétique de germination des deux géotypes (CG, %)

Nous procédons à une comparaison de la cinétique de germination selon les solutions pour les deux variétés de blé dur:

Les différentes cinétiques de germination des deux géotypes, aussi bien sous solution témoin que sous différents stress de PEG 6000, représentées dans les différentes figures ci-dessous, montrent que si pour la solution sans contrainte, la germination est presque quasi-

CHAPITRE III : Résultats et discussion

similaire pour les deux génotypes (figure 12), l'application du stress hydrique a différents dosages de PEG 6000 a provoqué une augmentation du temps de germination pour les deux variétés (figures 13 à 15), mais avec un ralentissement plus important pour le génotype Waha et un taux de germination finale moindre.

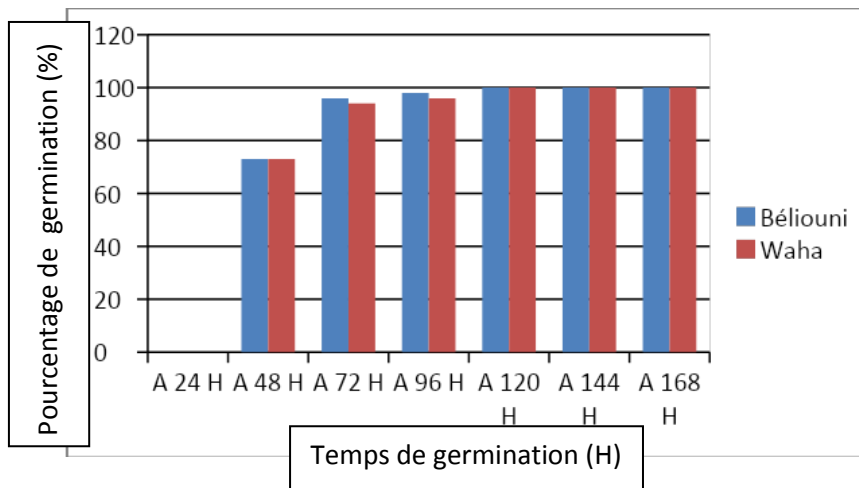


Figure 12 : Histogramme de la cinétique de germination des deux génotypes en situation de non contrainte.

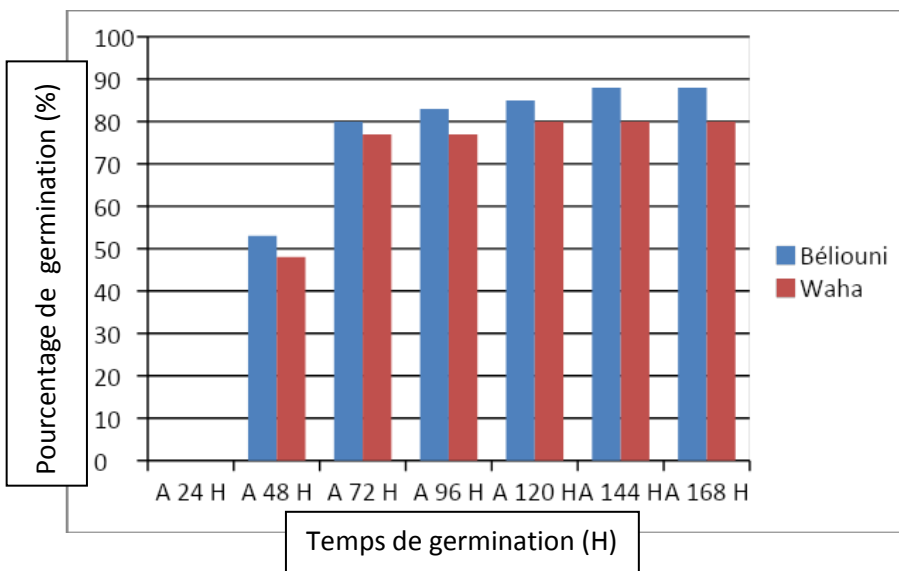


Figure 13 : Histogramme de la cinétique de germination des deux génotypes en situation de stress au PEG 5%

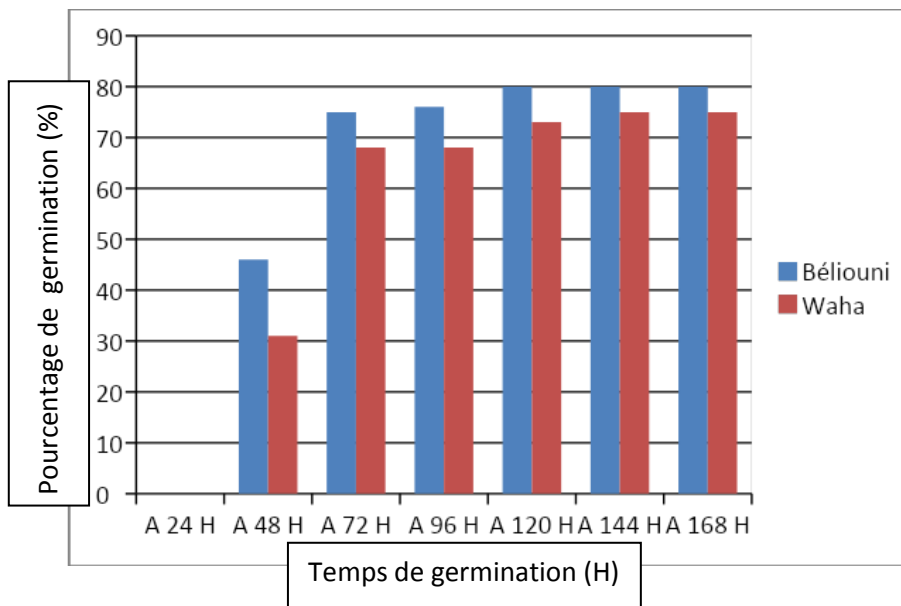


Figure 14 : Histogramme de la cinétique de germination des deux géotypes en situation de stress au PEG 10%

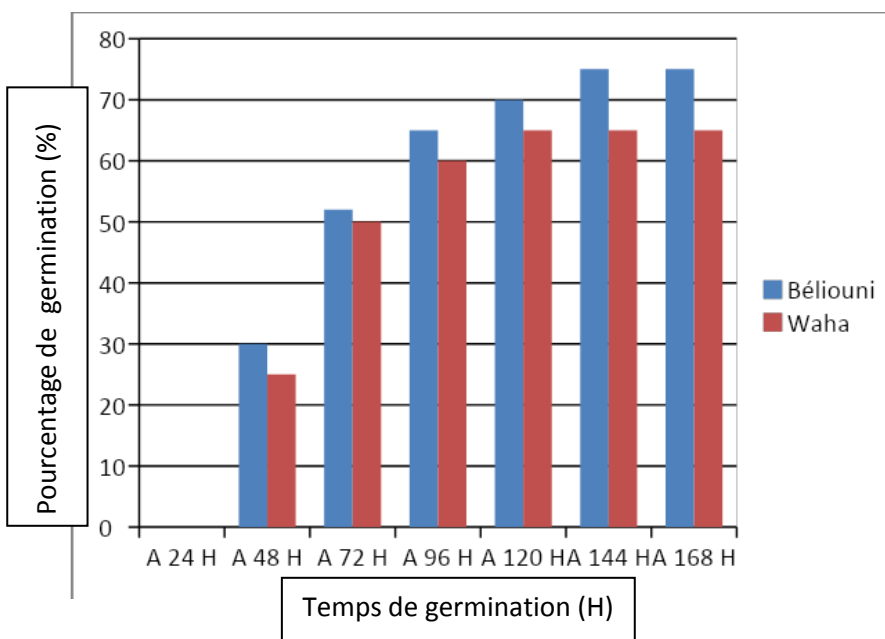


Figure 15 : Histogramme de la cinétique de germination des deux géotypes en situation de stress au PEG 20%

1.4. Germination moyenne journalière (MDG, %)

MDG % = % Germination finale/Nombre de jours à la germination finale. L'examen des résultats dans le tableau ci dessous indique une diminution de la moyenne de germination journalière, pour les deux géotypes testés, proportionnellement avec l'augmentation de l'intensité du stress.

Tableau 5 : Germination moyenne journalière des deux génotypes

	S.Témoin	S.PEG5%	S.PEG10%	S.PEG15%	S.PEG20%
Béliouni	30,53	17,67	16,33	13,94	11,66
Waha	30.53	16.33	13.63	12.22	10.77

On remarque qu'en condition contrôle, le taux moyen de germination journalière est assez conséquent et a atteint les 30,53% chez les deux variétés étudiées.

En présence de 5% de PEG-6000, la germination moyenne journalière baisse pour atteindre des taux respectifs de 16.33 % pour la variété Béliouni et 13.36 % pour la variété Waha, alors que pour une concentration de 20% de PEG-6000 les valeurs enregistrées diminuent considérablement. Ces dernières passent donc à 11.66% et 10.77% respectivement chez Béliouni et Waha.

1.5. Promptness index (PI)

$$P.I = nd2 (1.00) + nd4 (0.75) + nd6 (0.5) + nd8 (0.25).$$

Où « **n** » correspond au nombre de grains germés au jour « **d** » (par exemple le « **nd2** » = au nombre de graine germés au deuxième jour). Cet indicateur permet de prendre note de la célérité de la germination des deux génotypes, plus importante sous solution témoin, à plus de 42 et 44 % respectivement pour Waha et Béliouni. Mais dans une intensité moindre sous stress et à moins de 30% lorsque Béliouni ou Waha sont sous solution PEG 20%(tableau 6).

Tableau 6 : PI des deux génotypes

	S.Témoin	S.PEG5%	S.PEG10%	S.PEG15%	S.PEG20%
Béliouni	44,42	36,58	33,08	30,83	27,16
Waha	42,5	32,93	29,25	26,83	25,58

1.6. Longueur racinaire (LR, cm)

La longueur des racines est déterminée comme étant la longueur de la racine la plus longue, les mesures ont été effectués à l'aide d'une règle graduée et ce pour évaluer la croissance de la plante vis -à-vis du stress (Brahimi, 2017). La longueur des racines diminue progressivement par rapport au témoin en fonction des concentrations utilisées en PEG.

Les résultats de l'analyse du système racinaire sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 7 : La longueur racinaire des Variétés Béliouni et Waha

Genotypes	PEG0%	PEG5%	PEG10%	PEG15%	PEG20%
Béliouni	12.73	9.63	7.66	3.96	2.90
Waha	11.13	7.98	5.61	3.06	1.35

On remarque qu'en condition normale, le génotype Béliouni présente une LR plus grande que celle se Waha. Cette différence de LR entre les deux variétés de blé va s'accroître sous stress hydrique :

En présence de 5 % de PEG les valeurs notées sont de l'ordre de 9,63 cm chez Béliouni et de 7,98 cm chez Waha. Mais les réductions sont plus importantes sous une concentration de 15% et 20% de PEG. Pour ce dernier niveau de stress, on relève une valeur de 2,90 cm chez Béliouni et de 1,35 cm chez Waha.

L'intensité du stress hydrique imposé a provoqué une réduction de la longueur des racines des deux variétés d'autant plus importante que le stress est plus sévère. Cette réduction est due probablement à un arrêt de la division et de l'élongation cellulaire au niveau de la racine (Fraser et al. 1990).

Les travaux effectués par (Slama, 1996) ont montré que la variété ayant le système racinaire le plus développé en conditions de déficit hydrique donne le rendement le plus élevé.

1.7. Nombre des racines (NBR)

Nous avons constaté qu'en générale Béliouni ou le génotype Waha, comme le montre le tableau ci-après : le nombre de racines est affecté par les différentes concentrations de PEG, que ce soit pour le génotype

En condition de contrôle, le nombre de racines reste plus élevé avec une moyenne de 5 racines par plantule chez les deux génotypes.

En revanche en conditions stressantes, on observe des systèmes racinaires moins ramifiés et moins développés, avec un nombre moindre de racines, allant de 4 racines pour un stress au PEG 5% et 10%, à 3 racines(Béliouni) et 2 racines (Waha) pour un stress au PEG 20%.

Tableau 8 : Nombre de racines des deux génotypes

Genotypes	PEG0%	PEG5%	PEG10%	PEG15%	PEG20%
Béliouni	5.73	5.14	4.33	3.55	2.25
Waha	5.55	4.75	3.77	2.88	2

1.8. Longueur du coléoptile (LC, cm)

La longueur de coléoptile est mesurée à partir de la graine jusqu'à la sortie de la première vraie feuille. Elle permet d'évaluer la croissance de la plante sous l'effet du stress provoqué par les différentes solutions PEG.

Elle est mesurée en moyenne d'un l'échantillon de graines germées.

Les deux variétés se comportent de façon légèrement différente vis-à-vis le stress hydrique appliqué par le PEG, avec une certaine réaction de réduction plus marquée pour le génotype Waha.

En effet les différentes concentrations en PEG ont affecté la longueur du coléoptile, mais dans des proportions différenciées pour chacune des variétés : Cette longueur prend une valeur maximum de 3.70 et 3.33 cm, sous solution Témoin, respectivement pour les génotypes Béliouni et Waha, et une valeur minimale de 1.08(Béliouni) et 0.68 cm(Waha) en condition de stress au PEG 20% .

Tableau 9 : Longueur du coléoptile des variétés Béliouni et Waha

Génotypes	PEG0%	PEG5%	PEG10%	PAG15%	PAG20%
Béliouni	3.70	2.96	2.56	1.38	1.08
Waha	3.33	2.67	2.03	1.20	0.68

1.9. Longueur des feuilles (LF, cm)

Le développement végétatif sous conditions limitant l'alimentation hydrique est fortement perturbé, l'on note principalement une diminution importante de la taille foliaire. Cette diminution est une des réponses des végétaux à la déshydratation, elle contribue à la conservation des ressources en eau, ce qui permet la survie de la plante.

Il faut noter que la longueur des feuilles connaît une similitude entre les deux variétés, sous solution témoin, pour diminuer au fur et à mesure de l'intensité du stress. Cette diminution est de près de 55% environ pour Béliouni, et de 70% pour Waha, sous solution PEG 20% !

Tableau 10: La longueur des feuilles des deux géotypes

Géotypes	PEG0%	PEG5%	PEG10%	PEG15%	PEG20%
Béliouni	12.80	11.90	9.70	9.13	5.53
Waha	12.53	10.33	8.70	7.20	3.70

1.10. Surface foliaire (cm²)

Globalement, une diminution progressive de la surface foliaire chez les deux variétés par rapport au témoin, alors que pour la variété Waha on remarque une plus grande diminution dans toutes les concentrations du PEG (tableau 11)

Tableau 11: La surface foliaire des variétés Béliouni et Waha

Géotypes	PEG0%	PEG5%	PEG10%	PEG15%	PEG20%
Béliouni	3,42	2,37	1,58	1,08	0,58
Waha	3,10	2,10	1,34	0,74	0,38

1.11. Ratio longueur racinaire/longueur foliaire (LR/LF)

Le ratio longueur LR/LF donne une lieu à une évolution régressive plus importante pour la variété Waha en comparaison à la variété Béliouni, traduisant une plus grande

incidence du stress hydrique à la fois sur la longueur racinaire et aussi sur la longueur foliaire pour les deux variétés, mais de manière plus forte pour Waha ;

La réduction de la croissance foliaire est donc bénéfique à la plante soumise à un stress hydrique, la surface des feuilles diminuée la transpiration serait réduite. Habituellement, l'effet exercé par un potentiel hydrique faible est attribué à une perte de turgescence des cellules des zones en croissance.

Tableau 12 : Ratio Longueur racinaire/longueur foliaire

	S.Témoin	S.PEG5%	S.PEG10%	S.PEG15%	S.PEG20%
Béliouni	1.01	0.83	0.72	0.62	0.47
Waha	0.89	0.73	0.63	0.52	0.37

2. Gènes codant pour les facteurs de transcription WYRK (approche in silico)

2.1. la banque de données NCBI :

La NCBI est une banque qui héberge des gènes, de l'ARNm et des protéines (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide>).

A l'aide de cette banque, la recherche nucléotidique s'effectue pour identifier un gène, en sélectionnant la catégorie gène dans le bandeau de recherche, puis en sélectionnant le gène, et visualisant la structure du gène ; on utilise le lien FASTA pour faire apparaître la séquence du gène ; ensuite on trouve l'ARNm correspondant à la séquence du gène.

2.2. GenBank :

Est une banque américaine gérée par le National Centre for Biotechnology Information (NCBI) ;

2.3. Recherche des facteurs de transcriptions WYRK dans GenBank :

Rappelons que les facteurs WRKY ont été étudiés surtout dans la réponse génique aux maladies, mais ils sont également impliqués dans la réponse aux stress abiotiques. La recherche de la séquence du gène souhaitée est effectuée à l'aide du moteur de recherche

intégré en sélectionnant la catégorie WYRK *triticum* dans le bandeau de recherche dans la catégorie gène. Elle se déroule selon la démarche illustrée par les captures d'écran ci-après (Voir les figures 16 à 20 ci-dessous) :

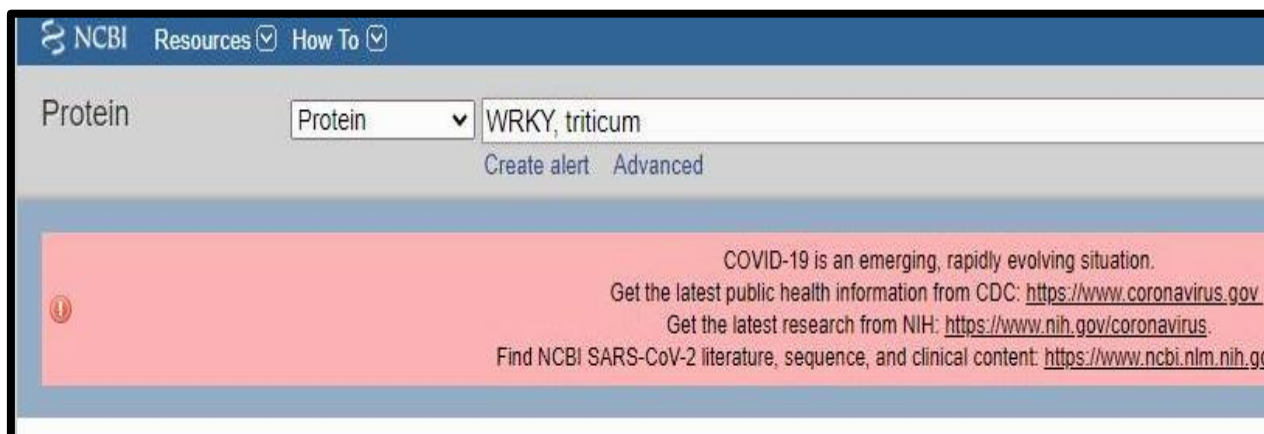


Figure 16: Recherche sur NCBI de la séquence d'intérêt WYRK triticum

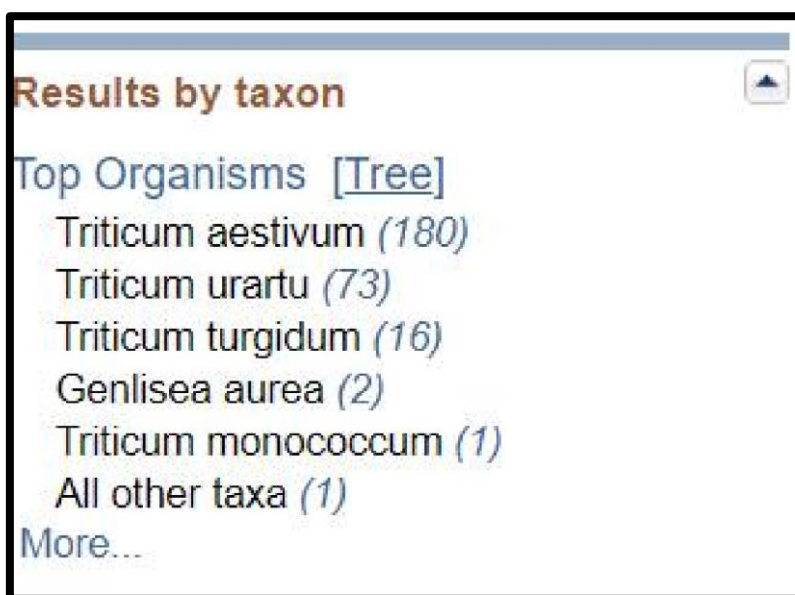


Figure 17 : Sélection de la séquence recherchée, en triant les résultats obtenus.

The screenshot displays the NCBI BLAST web interface. At the top, there are navigation tabs for 'blastn', 'blastp', 'blastx', 'tblastn', and 'tblastx'. The 'blastp' tab is selected. The main heading is 'Enter Query Sequence'. Below this, there is a text input field containing the accession number 'AN345142.1'. To the right of this field are 'Clear' and 'Query subrange' options. The 'Query subrange' section includes 'From' and 'To' input fields. Below the text field, there is a section for file upload: 'Or, upload file' with a 'Choisir un fichier' button and 'Aucun fichier choisi' text, and a 'Job Title' field with a placeholder 'Enter a descriptive title for your BLAST search'. There is also a checkbox for 'Align two or more sequences'. The next section is 'Choose Search Set', featuring a 'Database' dropdown menu set to 'Non-redundant protein sequences (nr)', an 'Organism' field with a placeholder 'Enter organism name or id--completions will be suggested' and an 'exclude' checkbox, and an 'Exclude Optional' section with checkboxes for 'Models (XM/XP)', 'Non-redundant RefSeq proteins (WP)', and 'Uncultured/environmental sample sequences'. The 'Program Selection' section has a radio button selected for 'blastp (protein-protein BLAST)' and other options for 'Quick BLASTP', 'PSI-BLAST', 'PHI-BLAST', and 'DELTA-BLAST'. At the bottom, there is a large blue 'BLAST' button and a checkbox for 'show results in a new window'.

Figure 18 : Recherche de la séquence souhaitée dans la catégorie gène

BLAST « Basic Local Alignment Search Tool », est un programme couramment utilisé pour trouver des régions d'homologie entre différentes séquences. C'est une méthode de recherche heuristique en bioinformatique qui permet de trouver les régions similaires entre deux ou plusieurs séquences de nucléotides ou d'acides aminés, et de réaliser un alignement de ces régions homologues.



Figure 19 : Recherche dans BLAST l'alignement de la séquence d'intérêt à l'aide d'un moteur de recherche.

Pour faire la séquence souhaitée dans la catégorie gène WYRK, on utilise le lien FASTA ; Cette recherche a permis une sélection de 15 protéines dont les 9 premières protéines de blé dur ont une E-value équivalente à 0, score très significatif qui indique qu'il est improbable que la similarité entre la protéine requête et le hit provienne du hasard.(Figure 20)

CHAPITRE III : Résultats et discussion

Description	Score	E value	Accession
Triticum aestivum (bread wheat) [monocots]			
			▼ Next ▲ Previous ◀ First
WRKY transcription factor 33 (Triticum aestivum)	738	0.0	ALR88711
WRKY transcription factor, partial (Triticum aestivum)	738	0.0	ANJ45142
WRKY transcription factor 33-2 (Triticum aestivum)	726	0.0	ASC42972
WRKY transcription factor (Triticum aestivum)	714	0.0	ABN43177
WRKY80 transcription factor (Triticum aestivum)	629	0.0	AFW98256
WRKY transcription factor 33-3 (Triticum aestivum)	615	0.0	ASC42973
WRKY8 transcription factor (Triticum aestivum)	613	0.0	ABC61128
WRKY4 transcription factor, partial (Triticum aestivum)	612	0.0	ACD80365
transcription factor WRKY71, partial (Triticum aestivum)	534	0.0	APW85157
WRKY79 transcription factor (Triticum aestivum)	321	6e-105	AFN44008
WRKY48 transcriptional factor (Triticum aestivum)	296	2e-95	ALC04265
Triticum turgidum subsp. durum (durum wheat) [monocots]			
			▼ Next ▲ Previous ◀ First
unnamed protein product (Triticum turgidum subsp. durum)	725	0.0	VAI56034
unnamed protein product (Triticum turgidum subsp. durum)	679	0.0	VAI56037
unnamed protein product (Triticum turgidum subsp. durum)	665	0.0	VAI56036
unnamed protein product (Triticum turgidum subsp. durum)	627	0.0	VAI44442
unnamed protein product (Triticum turgidum subsp. durum)	615	0.0	VAI44443
unnamed protein product (Triticum turgidum subsp. durum)	613	0.0	VAI44446
unnamed protein product (Triticum turgidum subsp. durum)	562	0.0	VAI44445
unnamed protein product (Triticum turgidum subsp. durum)	532	0.0	VAI56035
unnamed protein product (Triticum turgidum subsp. durum)	524	0.0	VAI44440
unnamed protein product (Triticum turgidum subsp. durum)	450	2e-156	VAI44444
unnamed protein product (Triticum turgidum subsp. durum)	337	2e-107	VAI56038

15 protéines de blé dur dont les 9 premières ont une E-value équivalente à 0

Figure 20 : la recherche de la séquence souhaitée dans la catégorie gène WYRK du blé dur

L'hypothèse alternative est que cette similarité de séquence reflète le fait que les deux séquences dérivent d'un ancêtre commun. Dans un tel cas, on peut conclure que les deux séquences sont très vraisemblablement homologues.

The screenshot shows a web interface for protein data. At the top, there is a search bar with 'Protein' selected in a dropdown menu and an 'Advanced' button. Below this is a red banner with a warning icon and text: 'COVID-19 is an emerging, rapidly evolving... Get the latest public health information from CDC: [https://www.cdc.gov](#) Get the latest research from NIH: [https://www.nih.gov](#) Find NCBI SARS-CoV-2 literature, sequence, and clinical content: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sars-cov-2](#)'. Below the banner, there is a 'FASTA' link with a dropdown arrow. The main content area displays the protein name 'WRKY transcription factor, partial [Triticum aestivum]' in bold, followed by 'GenBank: ANJ45142.1' and links for 'GenPept', 'Identical Proteins', and 'Graphics'. The protein sequence is shown in a monospaced font, starting with '>ANJ45142.1 WRKY transcription factor, partial [Triticum aestivum]' and ending with 'PTRDIN'.

Figure 21 : Utilisation du lien FASTA pour faire apparaître la séquence de la protéine (cas du blé tendre).

Les figures ci-dessous montrent les résultats du BLAST en donnant une représentation des séquences d'intérêt WYRK du blé dur *Triticum Durum* et celle du blé tendre *Triticum aestivum*, qui appartient au même sous-groupe. L'analyse de ces séquences permet de s'informer sur les caractéristiques fonctionnelles, structurales et évolutives de la protéine. L'objectif de ce travail était caractériser les mutations géniques à l'origine de la résistance aux stress abiotiques, dont la sécheresse, et de typer ainsi, les allèles de gènes gouvernant cette résistance.

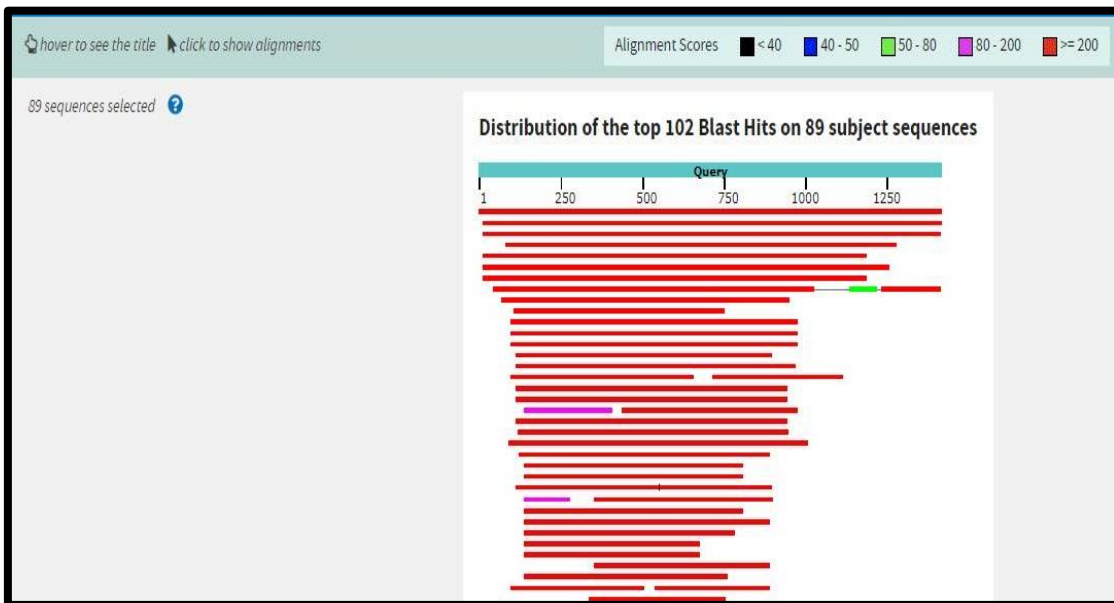


Figure 22 : Représentation des séquences d'intérêt WYRK du blé

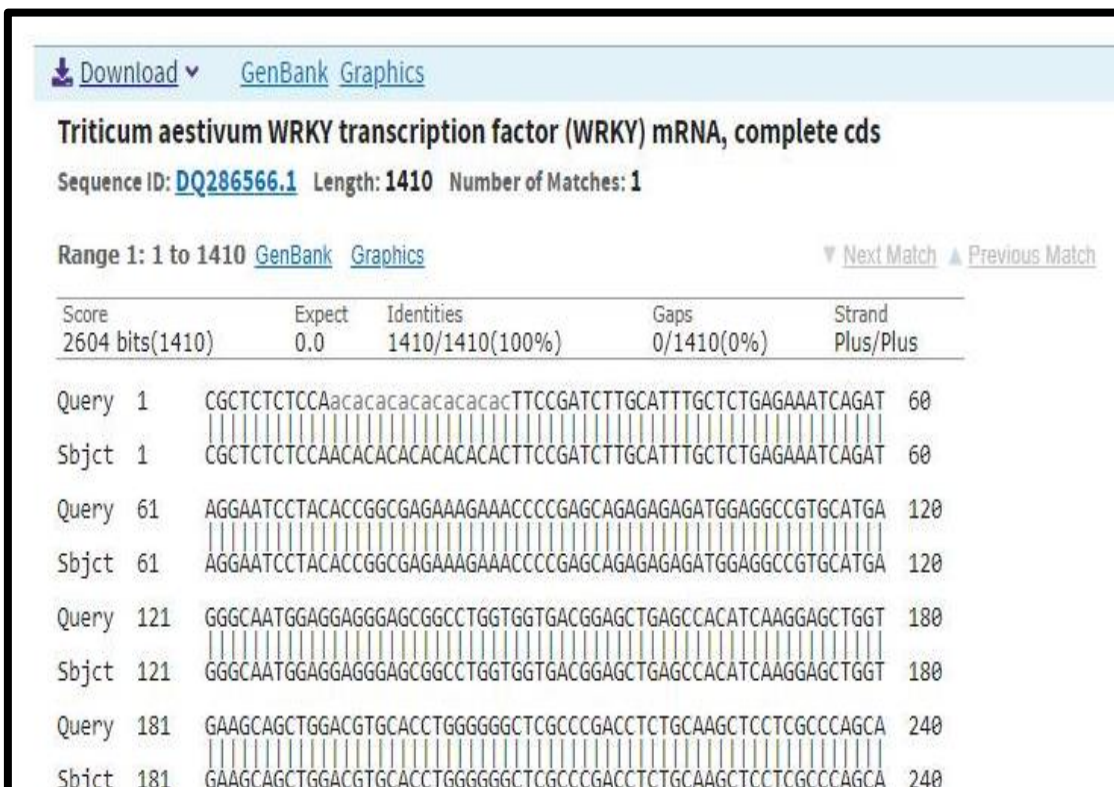


Figure 23 : Représentation des séquences d'intérêt WYRK du blé (cas du blé tendre)

La recherche des facteurs de transcription WYRK pour le blé dur dans GenBank, par questionnement de cette base de données, a permis d'identifier 15 protéines impliquées dans les mécanismes de tolérance développés sous contrainte hydrique.

Il y'a lieu de souligner que ces résultats sont limitées pour des contraintes de non disponibilité de données relatives aux facteurs de transcription WYRK pour le blé dur.

*Conclusion et
perspectives*

Conclusion et perspectives :

Les résultats obtenus à travers les paramètres retenus dans cette étude ont permis de mettre en évidence des différences de comportement vis-à-vis du stress hydrique chez les deux variétés :

- ✓ Le géotype Béliouni paraît plus résistant au stress hydrique que Waha, un constat confirmé par la totalité des indicateurs mesurés qui ont indiqué sa tolérance meilleure que la première variété citée.
- ✓ La comparaison de la cinétique de germination, par exemple, entre les deux variétés de blé dur, montrent que le stress hydrique imposé par le PEG 6000 a provoqué un ralentissement de la germination plus important pour le géotype Waha.
- ✓ La germination moyenne journalière, quant à elle, a exprimé une baisse aussi bien pour la variété Beliouni que pour la variété Waha, mais de façon plus importante chez la variété Waha.
- ✓ Les parties racinaires, mesurées par la longueur et le nombre de racines, ont, quant à eux, diminué en fonction des concentrations utilisées. Tout comme les parties aériennes des plantes, mesurées par la longueur du coléoptile, la longueur des feuilles et la surface foliaire.
- ✓ Le ratio longueur LR/LF, qui met en rapport la partie racinaire et la partie aérienne, traduit une plus grande incidence du stress hydrique à la fois sur la longueur racinaire et aussi sur la longueur foliaire pour les deux variétés, mais de manière plus forte pour Waha.

Tous ces indicateurs ont conforté la supériorité de Beliouni sur Waha, en ce qui concerne l'adaptation et une meilleure tolérance du stress hydrique, du moins dans sa phase germination, faisant de ce blé dur une variété prometteuse qui mérite approfondissement, tant

sur le plan génétique qu'expérimental, *in vivo*, *in vitro* et *in silico*, en vue de son amélioration génétique, et l'obtention d'une variété hautement résistante au déficit hydrique.

La tolérance au stress hydrique, pendant la phase de germination, peut donc être considérée comme un critère important pour l'évaluation de l'aptitude des variétés de blé dur à le tolérer durant leur première phase de développement.

Par ailleurs, la recherche des facteurs de transcriptions WYRK dans GenBank, par questionnement de cette base de données, nous a permis de souligner l'expression de plusieurs gènes et par conséquent la transcription de plusieurs nucléotides sous l'effet de différents stress biotique et abiotique comme les maladies, le stress hydrique et le stress salin chez les plantes.

La recherche effectuée dans le présent travail nous a permis d'identifier 15 protéines impliquées dans les mécanismes de tolérance développés par le blé dur sous contrainte hydrique. Ces résultats peuvent être considérés comme indicateurs d'adaptation de ces deux variétés de blé dur et peuvent être utilisés comme paramètres de sélection et les intégrer dans les programmes d'amélioration de ces variétés dans les régions arides ou semi arides.

La mise en place d'une stratégie de sélection par la détermination de gènes et produits de gènes induits en cas de stress hydrique, par l'approche *in silico*, constituerait alors un outil important d'appuis à la sélection variétale.

Ainsi, l'étude des paramètres retenus dans ce travail, et par les deux approches, sur d'autres variétés de blé dur, est souhaitable pour assurer une meilleure sélection de ces dernières dans des conditions de stress hydrique. Le recours à des expérimentations en situations réelles sur champ pour mieux évaluer la tolérance au stress hydrique semble nécessaire.

Bibliographie

Abebe T, Guenzi AC, Martin B, Cushman JC. 2003. Tolerance of mannitol accumulating transgenic wheat to water stress and salinity. *Plant Physiol* 131: 1748-1755

Abdul-Baki, A.A. and Anderson, J.D., 1973. Vigor determination in soybean seed by multiple criteria. *Crop science*, 13(6):630-633.

Aissani Nedjma, 2019. « Etude comparative des effets du stress salin et hydrique sur la germination et sur le comportement physiologique et biochimique de deux variétés de blé dur. », Mémoire de Master, Université des Frères Mentouri Constantine 1, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.

Ait Slimane et Ait Kaki, 2008. Contribution à l'étude de l'interaction génotype x milieu, pour la qualité technologiques chez le blé dur en Algérie. Mémoire de magistère. Université Badji Mokhtar Annaba

Al-Ani A., Leblanc M., Raymond P., Pradet A. et Moyose A., 1982. Effet de la pression partielle d'oxygène sur la vitesse de germination des semences à réserves lipidiques et amylacées : rôle du métabolisme fermentaire. Article .C.R. Acad.Sc. Paris, T. 295 (1982), 271-274.

Ameur F, 2011. Recherche de meilleures pratiques agricoles pour la culture de la pomme de terre. Thèse de d'ingénieur d'Etat en Agronomie. Ecole nationale supérieure agronomique El-Harrach –Alger.

Amira D et Fadel M, 2013. « La Sélection Variétale du Blé Dur à Partir des Paramètres Technologiques », Mémoire de Master , Université du 8 Mai 1945, Guelma, faculté des Sciences de la Nature, de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers .

Ammar M, 2014. Organisation de la chaîne logistique dans la filière céréales en Algérie .Etat des lieux et perspectives. thèse de hautes études du ciheam ,Institut Agronomique méditerranéen de Montpellier . 2014 . 114p.

Amokrane A., Bouzerzour H., Benmahammed A. et Djekoun A. 2002. Caractérisation des variétés locales, syriennes et européennes de blé dur évaluées en zone semi-aride d'altitude. *Sciences et Technologie. Univ. Mentouri. Constantine. N° spécial D:33 -38 p*

Amouri, A.A., Fyad Lameche, F.Z., & Karkachi, N., 2015. Variabilité de la tolérance au stress salin chez deux génotypes contrastés d'une légumineuse *Medicago truncatula* au stade germination. *Algerian journal of arid environment*, 5(2), 17-25.

Amrouche, I. et Mesbah-El., 2017. Effet du stress abiotique sur l'accumulation des protéines totales chez deux variétés de blé dur (*Triticum durum Desf.*). Mémoire de Master en Biologie et Génomique Végétale. Université des Frères Mentouri Constantine.

Bahlouli F., Bouzerzour H. et Benmahammed A., 2005. Selection of stable and high yielding cultivar of durum wheat under semi – arid conditions. Pakistan Journal of Agronomy 360 –365.

Baldy C ., 1984. Utilisation efficace de l'eau par la végétation en climats méditerranéens. Bull .Soc.Boton .Fr 131 (2, 3, 4) (Actuel Boton) 491- 499.

Bartels D et Sunkar R, 2005. Drought and salt tolerance in plants. Critical review in plant sciences. 24: 23-58

Belaid D., 1996. Aspect de la céréaliculture, Algérien. Office des publications universitaires. Alger.

Bellis M, et Casellas P, (1997) La puce ADN : un multi-réacteur de paille. Dossier technique, médecine/sciences 13 : 1317-24

Benidire, L., Daoui, K., Fatemi, Z. A., Achouak, W., Bouarab, L., & Oufdou, K., 2015. Effet du stress salin sur la germination et le développement des plantules de *Vicia faba* L. (Effect of salt stress on germination and seedling of *Vicia faba* L.). Journal of Materials and Environmental Science, 6(3), 840-851.

Ben Naceur M., Gharbi M.S. & Paul R. 1999. L'amélioration variétale et les autres actions contribuant à la sécurité alimentaire en Tunisie en matière de céréales. *Sécheresse*.

Bensaadi N., 2011. Effet du stress salin sur l'activité des alfa amylase et la remobilisation des réserves de graines d'haricot (*Phaseolus vulgaris* L.) en germination, mémoire de magistère, Université d'Oran.

Bentouati et Safsaf H, 2019. «Effet du chlorure de sodium (NaCl) sur la germination et les paramètres de croissance du blé (*Triticum* sp). », Mémoire Magister, Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi - B.B.A.Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

Berber M, 2002. Biotechnologie- La biopuce, une nouvelle arme des chercheurs. Radio France international. adresse URL: http://www1.rfi.fr/actufr/articles/026/article_12983.asp

Blum A. 1996. Crop responses to drought and the interpretation of adaptation plant growth regulation. .

Blum A., 1988. Plant breeding for stress environment – Baco.reaton.Florida – Ed CRC Press INC.

Bonjean A., 2001. Histoire de la culture des céréales et en particulier celle de blé tendre (*Triticum aestivum* L.). Dossier de l'environnement de l'INRA

Bonjean A. et Picard E., 1990. Les céréales à paille origine, historique, économie et sélection. Ed, Nathan.

Bouakez D., Hamadouche I., 2015. « Effet du stress hydrique au stade de germination sur la croissance de quelque génotype du blé dur (*Triticum durum* Desf.) Mémoire de Master, Université des Frères Mentouri Constantine, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Boufenar-Zaghouane et Zaghouane O., 2006. Guide des principales variétés de céréales à paille en Algérie (blé dur, blé tendre, orge et avoine). Institut Technique des Grandes Cultures (ITGC), Algérie.

Boussard J.M et Chabane M ., 2011., La problématique des céréales en Algérie : défis , enjeux et perspectives , Communication dans le cadre des 5èmes journées de recherches en sciences sociales à AgroSup Dijon , les 8 et 9 décembre 2011.

Brahimi, H.A. , 2017. Variations phénotypiques pour la tolérance aux stress salin et hydrique chez le blé tendre (*Triticum aestivum L.*). Mémoire de Master en Biotechnologie et Génomique Végétale. Université Mohames Boudiaf - M'Sila.

Bulletin de la sur l'offre et la demande de céréales, in .org/worldfoodsituation/csdb/fr, consulté le 16.05.2020

Chaumeil P., 2006. Plasticité moléculaire de deux écotypes de pin maritime soumis à un stress osmotique. thèse de doctorat. Université Henri Poincaré, Nancy I.

Chaussat R., 1999. Productions végétales : croissance et développement des plantes. Ed., Paris

Clerget Y., 2011. Biodiversité des céréales : Origine et évolution. Montbéliard.

Côme D, 1970. Les obstacles à la germination. Collection « monographie et physiologie végétale ». Masson. Paris, 162p.

Coutouly G, Klein E, Barbarie, Kriat M, 2012. Bioscience et Tech,ique: Travaux dirigés de biochimie, biologie moléculaire et bioinformatique. 4ème édition. ISBN: 978-2-7040-1354-8. 233-234

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

Debaeke P., Cabelguenne M., Casals ML. & Puech J., 1996. Élaboration du rendement du blé d'hiver en conditions de déficit hydrique. II. Mise au point et test d'un modèle de simulation de la culture de blé d'hiver en conditions d'alimentation hydrique et azotée variées. *Epicphase-blé. Agronomie*.16: 25 - 46 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 de Doctorat. Université Clermont-Ferrand, France.

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

Douib A., 2013. « Contribution à l'étude de quelques marqueurs physiologiques de tolérance au déficit hydrique chez le blé dur : taille de semences en tant que critère de sélection », Mémoire de Magister, Université Baji Mokhtar, Faculté des Sciences Département de Biologie.

Dure L, Galau GA, 1981. Developmental Biochemistry of Cottonseed Embryogenesis and Germination: XIII. Regulation of biosynthesis of principal storage proteins. *Plant Physiol* 68: 187-194

El Fakhri M., Mahboub S., Benchkroun M. et Nsarellah N., 2010. Effet du stress hydrique sur les caractéristiques d'enracinement du blé dur (*Triticum Durum* Desf). *Revue « Nature et Technologie »*, 03 : 6-12.

El HadeF El Kolli Lydia, 2015. « Valeurs d'appréciations de la qualité technologique et biochimiques des nouvelles obtentions variétales de blé dur en Algérie », Mémoire de Magister en Agronomie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université F. Abbes Sétif 1

Eulgem T, Rushton PJ, Robatzek S, Somssich IE, 2000. The WRKY superfamily of plant transcription factors. *Trends Plant Sci.* 5 : 199–206.

Feillet P., 2000. Le grain de blé. Composition et utilisation. Mieux comprendre. INRA. ISSN: 1144- 7605. ISBN: 2- 73806 0896- 8. p 308.

Feldman M., Sears. ER, 1981. The wild gene resources of wheat. *Sci. Am.* 244 : 98

Fraser TE, Silk WK. and Rost TL., 1990. Effect of low water potential on cortical cell length in growing region of maize roots. *Plant Physiology* 93: 648-651.

Gate P., 1995. *Ecophysiologie du blé.* Paris: Tec et Doc- Lavoisier.

Goyal K, Walton LJ, Tunnacliffe A, 2005., LEA proteins prevent protein aggregation due to water stress. *Biochem J* 388: 151-157

Grelet J, Benamar A, Teyssier E, Avelange-Macherel ,MH, Grunwald D, Macherel D , 2005. Identification in pea seed mitochondria of a late-embryogenesis abundant protein able to protect enzymes from drying. *Plant Physiol* 137: 157-167

Grignac P.H., 1965. Contribution d l'étude de *Triticum durum* (Desf.) Thèse d'état en Agronomie. Toulouse, 152 p.

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

- Gueorguiv D. et Arifi, 1978.** Corrélation entre le tallage et l'épiaison du blé dur .AL AWAMIA, 55 : 57-53.
- Hachemi MM., Saidani.,Bouattoura et Ait ameur C. ,1979.** Situation des céréales en Algerie .céréaliculture,N 11 ,pp7-12.
- Hajlaoui, H., Denden, M., & Bouslama, M., 2007.** Etude de la variabilité intraspécifique de tolérance au stress salin du pois chiche (*Cicer arietinum L.*) au stade germination. Tropicultura, 25(3), 168-173.
- Hassani A., Dellal A., Belkhodja M. et Kaid-Harche M., 2008.** Effets de la salinité sur l'eau et certains osmolytes chez l'orge (*Hordeum vulgare*). European journal of Scientific Research. Vol. 23 (1): 61-69.
- Hayak T., Bensalem M., et Zidi E., 2000.** Mécanisme ou stratégie de résistance à la sécheresse : cas du blé, de l'orge et du Triticale. Options Méditerranéennes Zaragoza, 40 : 287-290.
- Heller R., Esnault R. et Lance C., 2004.** Physiologie végétale II, développement. Ed., Dunod, Paris, Pp. 64-240.
- Henry Y., J. Buysen., 2000.**L'origine du blé. Pour la Science 26 :60-62.
- Hopkins W. G., 2003.** Physiologie végétale traduction de la 2ème édition américaine par Serge Rambourg.Révision scientifique de Charle Marie Evrard.Edition Deboek Université, Bruxelles : 66-81, 237-309, 362-514.
- Huang, S., Sirikhachornkit, A., Su, X., Faris, J., Gill, B., Haselkorn, R., & Gornicki, P., 2002.** Genes encoding plastid acetyl-CoA carboxylase and 3-phosphoglycerate kinase of the Triticum/Aegilops complex and the evolutionary history of polyploid wheat. Proceedings of the National Academy of Sciences, 99(12), 8133-8138.
- IGC, 2018.** International Grains Council. World grain statistics, www.igc.int
- Jaouadi, W., Hamrouni, L., Souayeh, N., & Khouja, M. L., 2010.** Etude de la germination des graines *d'Acacia tortilis* sous différentes contraintes abiotiques. Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement, 14(4), 643-652.
- Jones H.G., Flowers T.J. et Jones M.B., 1989.** Plants under stress. Univ. Cambridge.
- Karakas O, Gurel F. and Uncuoglu A.A., 2011.** Assessment of genetic diversity of wheat genotypes by resistance genealog-est markers. Genetics and Molecular Research 10:1098-1110.

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

Kiani P., 2007. Analyse génétique des réponses physiologiques du tournesol (*Helianthus annuus* L.) soumis à la sécheresse. Thèse Doctorat de l'Institut National Polytechnique de Toulouse

Kouakou, T. H., Kone, M., Kone, D., Kouadio, Y. J., & Zouzou, M. (2008). Réponse physiologique au stade juvénile du génotype R405-2000 de cotonnier (*Gossypium hirsutum* L.) au déficit hydrique induit par le polyéthylène glycol. *Sciences & Nature*, 5(1), 81-87.

Lamaze T., Tousch D., Sarda X., Grignoc C., Depigny-This D., Monneveux P. et Belhassane E., 1994. Résistance de plantes à la sécheresse : mécanismes physiologiques. *Le sélectionneur Français*, 45: 75-85.

Larcher W., 1995. Plant under stress. In, *Physiological Plant Ecology*. 3^{ème} ed. Springer :321- 448.

Lesage V., 2011. Contribution à la validation fonctionnelle du gène majeur contrôlant la dureté/tendreté de l'albumen du grain de blé par l'étude de lignée quasi-isogénique. Thèse de doctorat. Université Blaise Pascal.

Levitt J., 1982. Responses of plants to environmental stresses. Academic Press. New York San Francisco – London: 607p.

Levy, A. A., & Feldman, M. 2002. The impact of polyploidy on grass genome evolution. *Plant physiology* 130(4), 1587-1593.

Liu, L., M.J. White, T.H. MacRae., 1999. Transcription factors and their genes in higher plants: functional domains, evolution and regulation. *Eur J Biochem.*, 262: 247-257.

Madhava Rao K.V., Raghavendra A. S. et Janardhan Reddy K. 2006. Printed in the Netherlands. *Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants*. Springer: 1-14p.

Marchive Chloé, 2006. « L'identification et caractérisation fonctionnelle d'un gène codant un facteur de transcription de type WRKY chez la vigne, VvWRKY1. Implication dans les mécanismes de défense », thèse Doctorat, Option : Sciences des Aliments, Université Bordeaux1

Mare C, Mazzucotelli E, Crosatti C, Francia E, Stanca AM, Cattivelli L, 2004. Hv-WRKY38: a new transcript

Mazliak P., 1982. Physiologie végétale. Nutrition et métabolisme. 530p.

Mazouz L., 2006. Etude de la contribution des paramètres phéno-morphologiques dans l'adaptation du blé du blé dur (*Triticum durum* Desf.) dans l'étage bioclimatique semi -aride Mémoire de Magistère. Département Agronomie. Université Hadj Lakhdar, Batna ,70p.

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

Monneveux Ph, 1991. Quelles stratégies pour l'amélioration génétiques de la tolérance au déficit hydrique des céréales d'hiver? In amélioration des plantes pour l'adaptation aux milieux arides – Ed AUPELF.UREF – John Libbery – Eurotext Paris : 165 - 186.

Morgan Jm , 1983. Osmoregulation as a selection criterious for drought tolerance in wheat – *Aust. J. agro- Res* 34.

Mouellef A, 2010 . « Caractères physiologiques et biochimiques de tolérance du blé dur (*Triticum durum* Desf.) au stress hydrique.», Mémoire de magistère en Biotechnologies Végétales., U MC, Faculté de biologie.

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

Ouanzar Sihem, 2012. « Etude comparative de l'effet du semis direct et du labour conventionnel sur le comportement du blé dur (*Triticum durum* Desf.), Mémoire de Magister, Option : Production Végétale et Agriculture de Conservation, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université F. Abbes Sétif 1

Pascal, Martin GP, 2007. Etude du potentiel de regulation genique exerce par l'isoforme alpha du recepteur active par les proliferateurs de peroxysomes (ppara).Thèse de doctorat. Université Toulouse III – Paul Sabatier. 568

Pomeranz Y., 1988. Chemical composition of kernel structures. *Wheat: chemistry and technology*. Volume I: 97-158.

Rabbani M.A., Maruyama K., Abe H., Khan M.A., Katsura K., Ito Y., Yoshiwara K., Seki M., Shinozaki K. & Yamaguchi-Shinozaki K. 2003. Monitoring expression profiles of rice genes under cold, drought, and highsalinity stresses and abscisic acid application using cDNA microarray and RNA gel-blot analyses. *Plant Physiol* 133, 1755-67.

- Richards R.A., Rebtzke G.J., Van Herwaarden A.F., Duggan B.L., Condon A. 1997.** Improving yield in rainfed environments through physiological plant breeding. *Dryland Agriculture*, 36: 254-66.
- Rizhsky, L, Davletova S, Liang H and Mittler R, 2004.** The Zinc Finger Protein Zat12 Is Required for Cytosolic Ascorbate Peroxidase 1 Expression during Oxidative Stress in *Arabidopsis*. *J. Biol. Chem.* 279(12) : 11736-11743.
- Roya et Abio, 2003, 2003.** Salt tolerance in durum wheat cultivars. *Spanish journal of Agriculture Research*. Zaragoza. 9p.
- Schulze E-D, Beck E, et Müller-Hohenstein K, 2005** *Plant ecology*. Springer. Berlin. 117-143
- Sellami Soundes, 2018,** Etude comparative de la biodiversité chez deux espaces de blé *Triticum durum* et *Triticum aestivum*, variétés sélectionnées et variétés anciennes Mémoire de Magister, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Hamma Lakhdar, d'El Oued
- 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., Ben Salem M., Ben Naceur M. & Zid E. D. 2005.** Les céréales en Tunisie : production, effet de la sécheresse et mécanismes de résistance. *Sécheresse* (16)3, 225-229.
- Soltner D., 1987.** Les grandes productions végétales « Céréales-plante sarclées-prairies ». 15^{ème} Ed. Collecton sciences et techniques agricoles. 461p.
- Steel R. G. D. & Torrie J. H. 1982.** Principles and procedures of statistics. Mc GrawHill book Co., Inc., NY, 420 p.
- Tardieu F. (INRA, Montpellier), Pierre Cruiziat (INRA, Clermont-Ferrand), Jean-Louis Durand (INRA, Lusignan), Eugène Triboï (INRA, Clermont-Ferrand), Michel Zivy (CNRS, Gif-sur-Yvette) .** Perception de la sécheresse par la plante. Conséquences sur la productivité et sur la qualité des produits récoltés www.document-pdf.com > pdf_la sécheresse
- Tebbal Khadidja, 2018,** « Étude moléculaire de protéines impliquées dans l'adaptation du blé dur (*Triticum durum* Desf.) au stress hydrique (Approche *in silico*) », Mémoire de Magister, Faculté des Sciences de la Nature et de la vie, Université Mentouri Constantine 1..
- Thakur P.S. & Rai V.K. 1982.** Effect of water stress on protein content in two maize cultivars differing in drought resistance. *Biologia Plant* (Praha). 24 : 96 -100 p.
- Turner NC. 1986.** Adaptation to water deficit: a changing perspective. *Aust J Plant Physiol* 13 175- 90 p.

Valliyodan B, Nguyen HT, 2006. Understanding regulatory networks and engineering for enhanced drought tolerance in plants. *Curr Opin Plant Biol* 9: 189-195

Wadley G., Martin A. 1993. The Origins of Agriculture A Biological Perspective and New Hypothesis. *Australian Biologist* 6: 96-105.

Wang W, Vinocur B, Altman A, 2003. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta* 218: 1-14

Wardlaw, I. F., 2002. Interaction between drought and chronic high temperature during kernel filling in wheat in a controlled environment. *Annals of Botany*, 90: 469-476.

Xiong L, Schumaker KS, Zhu JK. 2002 Cell signaling during cold, drought, and salt stress. *Plant Cell* 14 Suppl: 165-183

Yokota, A., Takahara, K., Akashi, K. 2006. Water stress. In *Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants* (pp. 15-39). Springer, Dordrecht.

Zerrad W., HillAlis., Mataoui B., El Antri S. et Hmyene A., 2006. Etude comparative des mécanismes biochimiques et moléculaires de résistance au stress hydrique de deux variétés de blé dur. *Biochimie, Substances naturelles et environnement. Congrès international de biochimie.* Agadir.

Zhang J, Nguyen HT, Blum A, 1999. Genetic analysis of osmotic adjustment in crop plants. *J Exp Bot* 50: 291-302

Zitouni Z., 2006. Cinétique de quelques paramètres physiologiques du blé dur *triticum durum* (variété vitron) sous contrainte hydrique dans la plaine de Mitidja. *Mémoire Ing. INA.* El-Herrach. Alger. 171p.

Année universitaire : 2019/2020

Présenté par :

KAGHOUCHE Mourtada Med Lokmane

Effet du PEG-6000 sur la germination du blé dur (*Triticum durum* Desf), et recherche *in silico* de gènes codants pour les facteurs de transcriptions WYRK.

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

Résumé :

Le blé est une des céréales les plus employées dans l'alimentation des populations mondiales. Elle constitue également une source alimentaire importante pour les familles algériennes, notamment le blé dur. La demande de plus en plus forte de cette dernière n'est pas totalement satisfaite par l'agriculture en raison de l'instabilité des rendements et les irrégularités des précipitations. L'augmentation des rendements par le recours à la culture de génotypes plus tolérants au déficit hydrique s'avère ainsi nécessaire.

Or l'obtention de ces génotypes repose sur la compréhension des mécanismes de tolérance au stress hydrique et la réalisation des programmes d'amélioration génétique. Dans ce cadre de notre étude, deux approches étaient retenues : L'étude de la germination de deux variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.), Beliouni et Waha, suivi sous conditions de stress hydrique en présence de PEG-6000 et l'étude moléculaire, *in silico*, des protéines WYRK impliquées dans l'adaptation du blé dur au stress hydrique.

Les résultats obtenus, par les deux approches, se complètent et permettent la compréhension des mécanismes de tolérance au stress hydrique des deux variétés, qui semble privilégier, la stratégie adaptative comme réponse au stress imposé.

Mots clés : Stress hydrique, blé dur, PEG-6000, germination, tolérance, indicateurs, protéines, adaptation.

Laboratoire de recherche en Génétique, Biochimie et Biotechnologies Végétales.

Jury d'évaluation :

Présidente:	BOUSBA Ratiba	MCA. UFM Constantine.
Encadrant :	YKHLEF Nadia	Pr. UFM Constantine.
Examinatrice :	MOUELLEF Adra	MCB. UFM Constantine.

Date de soutenance : 09 / 07 / 2020