



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

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



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

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : de Biologie et Ecologie Végétale

قسم : بيولوجيا و علم البيئة النبات

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie et Génomique Végétale.

Intitulé :

**Etude comparative de l'effet du stress hydrique sur le
Comportement de quatre génotypes de blé dur
(*Triticum durum* Desf.).**

Présenté et soutenu par : *AINAOUI SOUROUR*
LAFALA ZOUBEIDA

Le 18/06/2016

Jury d'évaluation :

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

Rapporteur : Melle. **MOUELLEF Adra**, M.A.A à l'UFM., Constantine.

Examineurs : Mme. **GHILOUA-BOUCHTAB Karima**, M.A.A à l'UFM.,
Constantine.

Année universitaire
2015 - 2016

Remerciements

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

Nous voudrions remercier du fond du cœur M^{lle} MOUELLEF Adra, maître assistante à l'université des frères Mentouri, qui a encadré cette étude au quotidien. Pour son soutien, pour ses conseils utiles et sa gentillesse et pour ses appréciations sur ce travail.

Nous tenons à remercier les membres de jury :

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

Mme GHIOUA-BOUCHTAB Karima, maître assistante à l'université des frères Mentouri Constantine pour examiner et juger ce travail.

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

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

Enfin, ce travail n'aurait pas été mené à terme sans les concessions et les encouragements de mes Parents auxquels nous disons tout simplement merci.

Un grand merci à toute notre famille.

Dédicaces

À mes chers parents pour patience, gentillesse et pour leur soutien

moral

Surtout dans ma formation

À mon frère : Houssem

À ma belle sœur : Nadia.

À mes chères amies surtout : ismahene.

À mes amis d'études et surtout mon binôme Zoubeida.

SCURUR

Dédicaces

A mes chers parents pour patience, gentillesse et pour leur soutien moral

Surtout dans ma formation

A mes frères : Hichem et Djamel et Nasr Eddine.

A mes adorables sœurs : Karima et Iman.

A mon mari Sami.

Aux anges : Walid, anes, bilal, surtout Djihan et Alaa hajer

A ma tante souhayla et son mari Abd Elhamide , et la petite fleur Bouchra.

A mes amis d'études et surtout mon binôme Sourour.

ZOUBEIDA

Résumé

L'objectif de ce présent travail consiste à une analyse du comportement de quatre variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.) : (Ofonto, Mohamed benbachir, Joric69, Sigus) soumises à un stress hydrique, en effectuant une étude comparative de quelques mécanismes de tolérance.

Les résultats obtenus montrent que le stress hydrique a entraîné une réduction de la surface foliaire, une diminution de l'intégrité cellulaire et de la teneur relative en eau. De même, une augmentation de l'accumulation des sucres solubles sont également enregistrées. Le stress hydrique affecte des changements dans les différents paramètres étudiés chez l'ensemble des variétés mais à des degrés différents.

Au même temps, les résultats d'amplification des trois microsatellites (SSR) *barc142*, *Wms10* et *Wmc24* a révèlent un polymorphisme important chez les quatre variétés étudiées.

Ce polymorphisme peut être exploité pour la recherche des QTL et leur utilisation dans la sélection assistée par marqueur des blés durs en condition de stress hydrique.

Mots clés : Blé dur, tolérance, stress hydrique, SSR, marqueur morpho-physiologiques et biochimique.

Abstract

The objective of the present work is to analyze the behavior of four varieties of durum wheat (*Triticum durum* Desf.): (Ofonto Mohamed Benbachir, Joric69, Sigus) subjected to water stress, by making a comparative study of some mechanisms tolerance

The results obtained show that water stress caused a reduction in leaf area, decreased cellular integrity and relative water content. Similarly, an increase in the accumulation of soluble sugars is also recorded. Water stress affects changes in the parameters studied in all varieties, but to different degrees.

At the same time, the amplification results of three microsatellites (SSR) *barc142*, *Wms10* and *Wmc24* have revealed a polymorphism in four varieties studied.

This polymorphism can be exploited to search for QTL and their use in assisted selection marker for durum wheat under water stress condition.

Keywords:

Durum wheat, tolerance, water stress, SSR, morpho-physiological and biochemical marker.

المخلص

الهدف من هذا العمل هو تحليل السلوك من أربعة أصناف من القمح القاسي (الحنطة القاسي :محمدبن بشير, Ofonto ، Joric69 ، سيقوس) تعرض لإجهاد مائي، عن طريق دراسة مقارنة لبعض الآليات تسامح وتظهر النتائج أن الإجهاد المائي تسبب في خفض مساحة الورقة، انخفضت سلامة الخلية والمحتوى المائي النسبي. وبالمثل، كما سجلت زيادة في تراكم السكريات القابلة للذوبان. يؤثر الإجهاد المائي التغييرات في المعلومات درس في جميع الأصناف، ولكن بدرجات مختلفة.

نفسه، فإن النتائج التضخيم من ثلاثة الرموز الميكروساتليت SRR (Wmc24 و Wms10 ، barc142) كشفت تعدد الأشكال البوليمورفيزم في أربعة أصناف المدروسة.

هذا التعدد يمكن استغلالها للبحث عن QTL واستخدامها في الانتخاب بمساعدة المعلومات القمح القاسي تحت ظروف الإجهاد المائي.

كلمات المفتاح: القمح القاسي، والتسامح، وندرة المياه، SSR، - علامة مورفو الفسيولوجية والبيوكيميائية.

Liste des abréviations :

ADN :	Acide désoxyribonucléique
CE :	Conductivité Electrique
IC :	Intégrité Cellulaire
Kb :	Kilo base
Min :	Minute
ml :	Millilitre
P (1cm²) :	le poids 1cm ²
PCR :	Polymérase Chaîne de Réaction
PF :	Poids Frais
PS :	le Poids Sec
PT :	le Poids de réhydratation
S :	stressé
SAM :	Sélection Assistée par les Marqueurs
SF :	Surface Foliaire
SPAD:	développements pour l'analyse du sol et des plantes.
SSR :	Simple Sequence Repeat
T :	Témoin
TBE :	Tris Borate EDTA
TCT :	Taux de Chlorophylle Totale
TE :	Tris EDTA
Tris :	tris-hydroxyméthyl-aminométhane.
TRE :	Teneur Relative en Eau

Liste des figures

Figure 1: Phylogénie du blé dur	3
Figure2: Morphologie de blé dur	4
Figure 03: Fleurs et graine (caryopse) de blé.....	5
Figure 04: Anatomie du grain de blé.....	6
Figure 05 : Phylogénie du blé dur.....	16
Figure 06 : Dispositif expérimental.....	23
Figure 07 : Variation de la surface foliaire des quatre génotypes de blé dur(Témoins, Stressé).....	29
Figure 08 : Variation de la teneur relative en eau des quatre génotypes de blé dur (Témoins, Stressé).....	31
Figure09: Variation de taux de chlorophylle totale des quatre génotypes de blé dur (Témoins, Stressé).....	33
Figure 10 : Variation de l'intégrité cellulaire des quatre génotypes de blé dur (Témoins, Stressé).....	35
Figure 11 : variation de la teneur en sucres solubles des quatre génotypes de blé dur (Témoins, Stresse).....	36
Figure 12 : Vérification de la qualité d'extraction d'ADN sur gel d'agarose à 0.8 %.....	39
Figure 13 : Vérificationdel'amplificationdeslocus <i>Barc142</i> , <i>Wms10</i> et <i>Wmc24</i> surgeld'agarosede3% chez quatre génotypes de blédur	39

Liste des tableaux

Tableau. 01 : Présentation des marqueurs moléculaires RFLP, AFLP et SSR.....	14
Tableau.02: Les amorces utilisées pour analyse SSR dans l’analyse de la tolérance du blé dur à la sécheresse.....	18
Tableau 03. Les marqueurs microsatellites et les amorces utilisées correspondantes dans cette étude.....	19
Tableau 04: Description des marqueurs SSR utilisés dans l’étude de la tolérance au stress hydrique chez le blé dur	19
Tableau 05: Les génotypes étudiés et leurs origines.....	22
Tableau 06: Liste des microsatellites utilisés.....	27
Tableau 07 : Composition de mélange réactionnel de la PCR.....	27
Tableau08 : Classement des variétés sous deux traitements d’irrigation pour la surface foliaire (SF).....	30
Tableau 09 : Classement des deux traitements applique chez les quatre variétés pour la teneur relative en eau.....	30
Tableau 10 : Classement des variétés sous deux traitements d’irrigation pour la teneur relatives en eau	31
Tableau11: Classement des variétés sous deux traitements d’irrigation pour le taux de la chlorophylle	32
Tableau 12: Classement des deux traitements applique chez les quatre variétés pour le taux de chlorophylle totale	33
Tableau13: Classement des deux traitements applique chez les quatre variétés pour la l’intégrité cellulaire	34
Tableau 14: Classement des variétés sous deux traitements d’irrigation pour l’intégrité cellulaire (IC).....	35

Tableau15: Classement des deux traitements applique chez les quatre variétés pour la teneur en sucres solubles	36
Tableau 16 : Classement des deux traitements applique chez les quatre variétés pour la teneur en sucres solubles.....	37
Tableau 17: Classement des variétés sous deux traitements d'irrigation pour la tenure de sucre totale.....	37
Tableau 18 : Quantité d'ADN extrait.....	38

Sommaire

Introduction.....	01
-------------------	----

Chapitre I : Revue bibliographique

1-1-Généralité sur le blé dur.....	03
1-1- Origine du blé dur.....	03
1-1-1- Origine géographique.....	03
1-1-2- Origine génétique	03
1-2- La Classification botanique et description morphologique du blé dur.....	04
1-2- 1- L'appareil végétatif.....	04
1-2-1-1- Le système racinaire.....	04
1-2-1- 2- Le système aérien.....	05
1-2-2- L'appareil reproducteur.....	05
1-2-3- Le grain de blé.....	06
2- L'importance et la production de blé dans le monde et en Algérie.....	06
3-Stress hydrique	07
4-Stratégies de la réponse des plantes au stress hydrique.....	07
4-1- La stratégie d'esquive	07
4-2- La stratégie d'évitement.....	08
4 -2-1- Les Mécanismes morphologiques.....	09
4-2-2- Les Mécanismes physiologiques	09
4-3- La stratégie de tolérance	09
4-3-1- L'Accumulation des sucres solubles.....	10
4-3-2- La teneur en chlorophylle.....	10
5- Amélioration génétique du blé.....	11
6- Sélection.....	11
6-1- La sélection pour améliorer l'adaptation.....	12
6-2- Un Marqueur moléculaire	13
7- Sélection assistée par marqueurs (SAM)	15
7-1- L'utilisation des microsatellites comme marqueur dans la sélection des plantes.....	17
7-1-1- Les microsatellites ou SSR.....	17
7-1-2- Application de SAM microsatellites dans l'amélioration du blé au stress abiotique.....	17

Chapitre II : Matériel et méthodes

1- Matériel végétal	22
2- Mise en place de l'essai.....	22
3- plan expérimental.....	22
3-1- Germination des graines et mise en culture.....	22
3-2- Application du stress hydrique.....	23
4- paramètres mesurés.....	24
4-1- Le paramètre morphologique : la surface	

foliaire.....	24
4-2- Les paramètres physiologiques.....	24
4-2-1- La teneur relative en eau (TRE « % »)	24
4-2-2- Le taux de chlorophylle totale (TCT «unité de SPAD»).....	24
4-2-3- L'intégrité cellulaire (IC « % »)	25
4-3- le paramètre biochimique : les sucres solubles	25
4-4- Paramètre moléculaire	26
4-4-1- Extraction d'ADN génomique de blé dur	26
4-4-2- PCR (polymérase chaîne réaction).....	27
4-4-3- Le Programme de la PCR.....	28
4-4-4- L' électrophorèse et lecture des résultats.....	28
5- Traitement des données	28

Chapitre III : Résultats et discussion

1- Analyse du paramètre morphologique : l'Analyse de la surface foliaire.....	29
2- Analyse des Paramètres physiologiques.....	30
2-1-L'Analyse de la teneur relative en eau (TRE %)......	30
2-2- L'Analyse du taux de la chlorophylle totale.....	32
2-3- L'Analyse de l'intégrité cellulaire.....	34
3-Analyse du paramètre biochimique : l'analyse du taux des sucres totaux.....	36
4-Analyse des Paramètres moléculaire.....	38
4-1- La Quantification de l'ADN.....	38
4-2- La Qualité d'extraction.....	39
4-3- Les Résultats de l'amplification.....	39
Conclusion.....	41
Références bibliographiques.....	43

A decorative graphic featuring a central white oval containing the word "Introduction". The oval is surrounded by a wreath of golden wheat stalks. Below the oval is a wide, flowing golden ribbon with a white border and a slight shadow, giving it a three-dimensional appearance.

Introduction

Introduction

Les céréales constituent une part importante des ressources alimentaires de l'homme et de l'animal. Parmi ces céréales, le blé dur (*Triticum durum* Desf.) compte parmi les espèces les plus anciennes et constitue une grande partie de l'alimentation de l'humanité, d'où son importance économique (Bouzerzour et al., 2000). Les grains de blé dur servent à la fabrication de semoule matière première de la fabrication des pains, pâtes alimentaires, des galettes et de couscous... (Kellou, 2008).

Selon les statistiques du Conseil International des Céréales dans l'année 2014/2015, la production de blé dur en Algérie est inférieure à la consommation (Anonyme, 2016). Cette faible production est souvent expliquée par l'influence des mauvaises conditions climatiques associées, notamment à la sécheresse, la désertification, l'érosion, et la salinisation des sols.

Le stress hydrique est également un de ces facteurs, il peut se définir comme le rapport entre la quantité d'eau nécessaire à la croissance de la plante et la quantité d'eau disponible dans son environnement (Laberche, 2004). Un déficit hydrique, affecte le rendement de culture du blé dur.

Pour lutter contre le manque d'eau, les plantes développent plusieurs stratégies adaptatives qui varient en fonction de l'espèce et des conditions du milieu, à partir de ces mécanismes, plusieurs améliorateurs, généticiens, biotechnologues ont sélectionné les géotypes les plus tolérants et les plus productifs dans tels conditions.

Le sélectionneur doit choisir une stratégie d'action qui peut maximiser ses chances de création d'une bonne variété en utilisant les ressources génétiques, les méthodes de sélection classiques, les nouvelles techniques de biologie moléculaire en intégrant au mieux les outils de la biotechnologie tels que les marqueurs moléculaires "les microsattélites SSR" en sélection assistée par marqueur.

L'objectif de ce présent travail consiste à une analyse du comportement de quelques variétés de blé dur soumises à un stress hydrique, en effectuant une étude comparative de quelques mécanismes de tolérance. Pour ce la on utilise l'analyse de quelques paramètres morpho-physiologiques, biochimiques et moléculaire à l'aide de marqueurs microsattélites.

Ce mémoire est structuré en trois grandes parties :

- Une première partie qui représente une synthèse bibliographique qui se base essentiellement sur des généralités sur le blé dur, la réponse des plantes en condition de stress hydrique et la sélection assistée par marqueur.
 - Une deuxième partie qui englobe la description du matériel végétal, conditions de culture et les paramètres étudiés.
 - La troisième partie consacrée au traitement des résultats obtenus et leur discussion.
- Et finalement une conclusion et perspective suivi par une liste de références bibliographique.



Revue
Bibliographiques

Chapitre I

- 1- Généralité sur le blé dur**
- 1-1- Origine du blé dur**
- 1-1-1- Origine géographique**

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

1-1-2- Origine génétique

Le blé dur (*Triticum.turgidum*ssp.*durum*Desf.) est une espèce allo tétraploïde ($2n = 28$) (AABB) qui a pour origine d'hybridation suivie par un doublement chromosomique entre *Triticum Urartu* (génome AA) et une espèce voisine d'*Aegilops sépaloides* (génome BB) (figure 01).

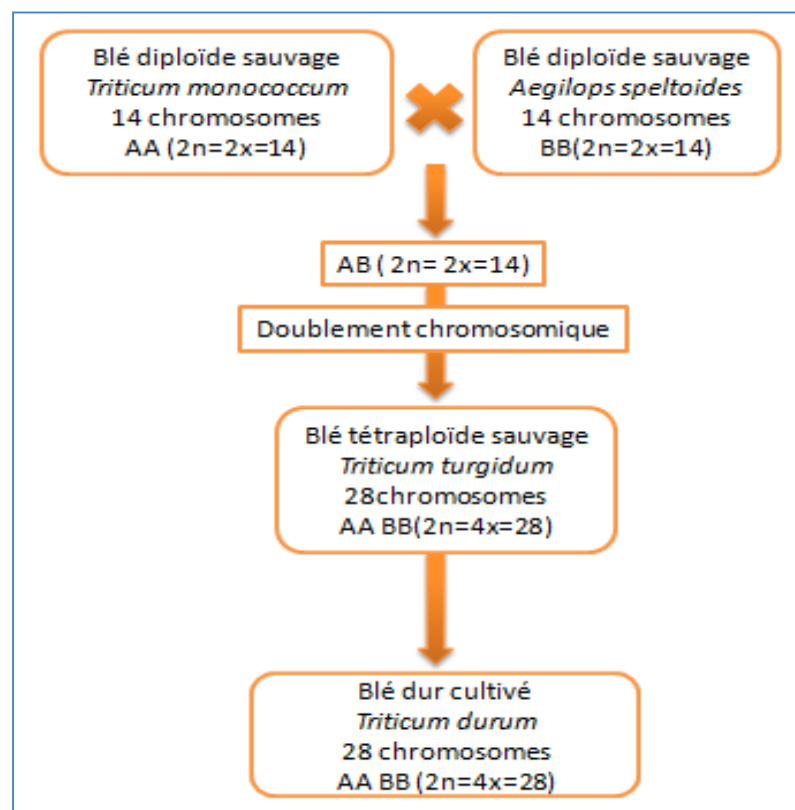


Figure 1: Phylogénie du blé dur (Debiton. 2010).

1-2- Classification botanique et description morphologique du blé dur

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

Classe : Angiospermes

Ordre : Monocotylédones

Famille : *Poacées (Gramineae)*

Tribu : *Hordées*

Genre : *Triticum*

Espèce : *Triticum durum*

Nom commun : Blé dur

1-2-1- L'appareil végétatif

Il s'agit d'une graminée annuelle de hauteur moyenne dont la structure morphologique générale est la suivante (Figure02) :

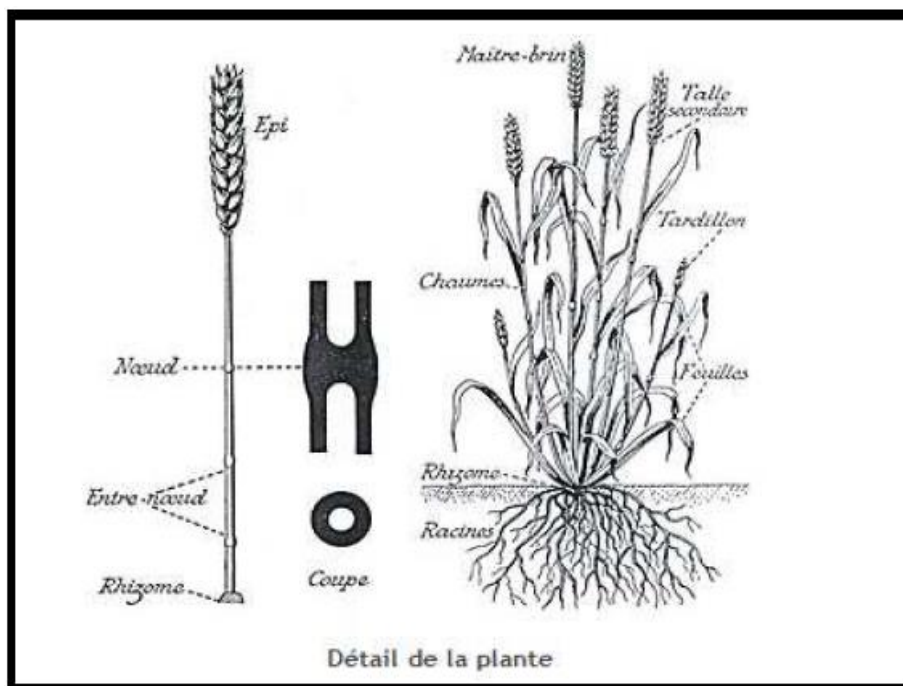


Figure2: Morphologie de blé dur (Anonyme a, 2003).

1-2-1-1- Le système racinaire

Le système racinaire est de type fasciculé. En cours de développement, deux systèmes se forment (Belaid, 1996):

- Le système racinaire séminal (primaire) : fonctionne de la germination au tallage.
- Le système racinaire coronaire (secondaire) : apparait au stade tallage.

1-2-1-2- Le système aérien

La tige est cylindrique, séparée par des nœuds Selon Belaid, (1996), La tige principale appelée le maître brin et des tiges secondaires appelées talles qui naissent à la base de la plante

(Gate, 1995). Les feuilles sont à nervures parallèles et formées en deux parties : La partie inférieure et la partie supérieure

1-2-2- L'appareil reproducteur

Les fleurs sont groupées en inflorescences de type épi (Figure.03). Ce dernier est constitué d'un axe appelé le rachis sur lequel sont fixés les épillets (Belaid, 1996). Le blé est une plante monoïque à fleurs parfaites (Cook et al. 1991). Elle se reproduit par voie sexuée et par l'autofécondation (espèce autogame) (Soltner, 1999).

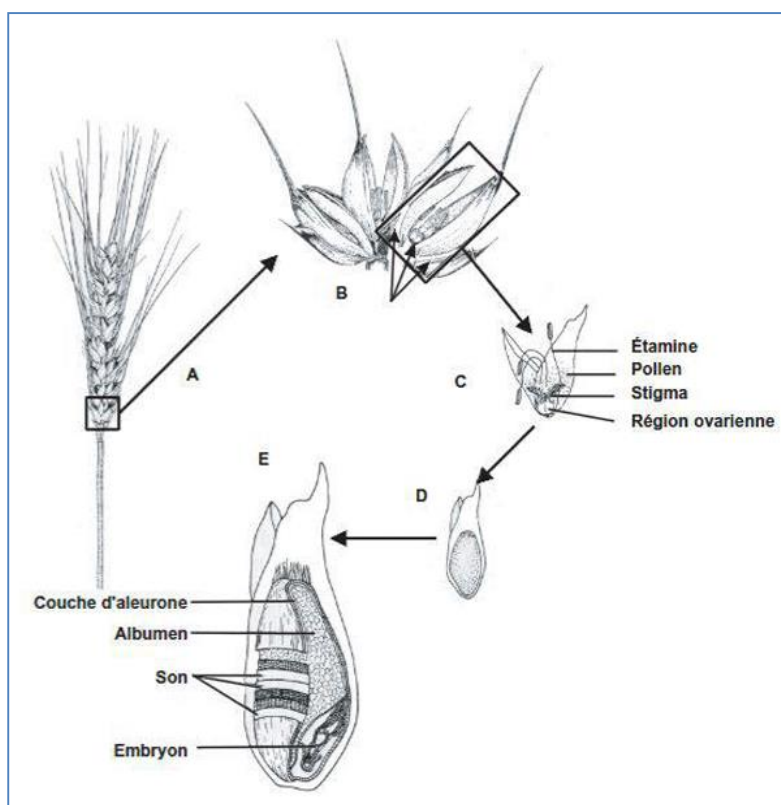


Figure 03: Fleurs et graine (caryopse) de blé (Heiser, 1990).

A. Epi composé de plusieurs épillets possédant plusieurs fleurs ; **B.** Epillet à trois fleurs ; **C.** Composantes d'une fleur ; **D.** Jeune caryopse ; **E.** Fruit mature (caryopse)

1-2-3- Le grain de blé

Sur le plan morphologique, le grain a une forme ovoïde de coloration blanchâtre à brunâtre avec un sillon sur la face ventrale, il est de taille de 6.5 à 8.5 mm de long et son diamètre de 3 à

4mm. Histologiquement, le grain de blé dur est formé de trois types de tissus le germe (3% du poids du grain), les enveloppes (17%) et l'albumen (80%) (Fredot, 2005) (Figure 04).

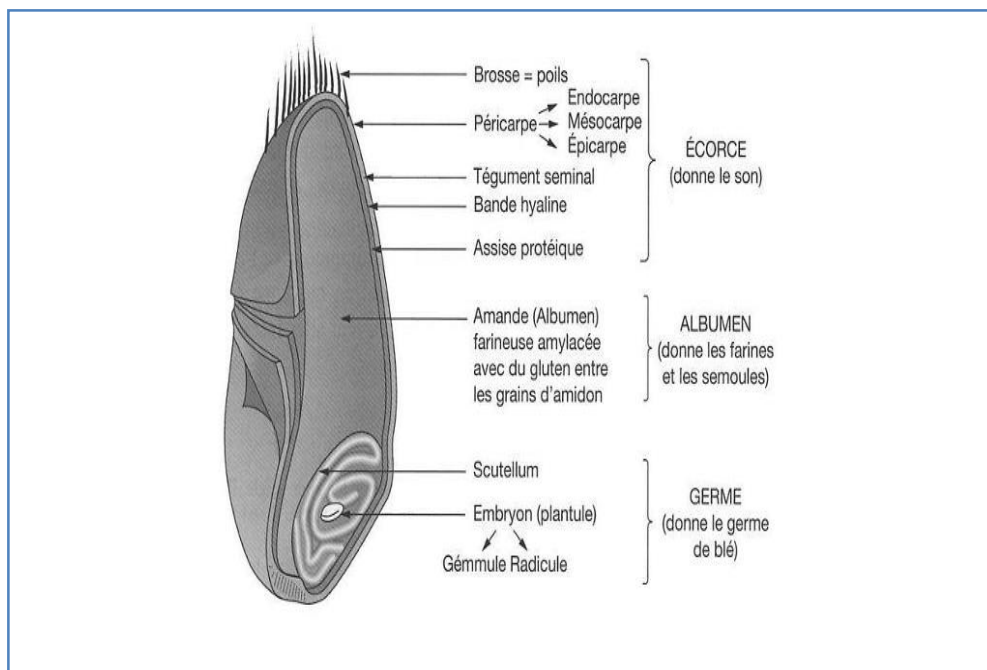


Figure 04: Anatomie du grain de blé (Fredot, 2005)

2- L'importance et la production de blé dans le monde et en Algérie

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

Le blé est une céréale aux enjeux économique très importants. En volume récolté, avec estimation 2518.8Mt en 2013/2014.

En Algérie, Le blé est la première céréale cultivée dans le pays. Elle occupe annuellement plus d'un million d'hectares. La production céréalière de la campagne 2012/2013 a atteint 49.1 million qu'au niveau national, en baisse de 9000.000 q par rapport à la saison précédente. La sécheresse a frappé en 2013 les zones céréales de l'est du pays .ce constat s'est traduit par une hausse de 25% des quantités de céréales importées par l'Algérie. Néanmoins ; cette hausse en termes de quantités n'a pas affecté le facteur d'importation qui a connu une légère baisse de 0,6% par rapport à l'année écoulée. Les importations ont ainsi atteint 3,16 milliards de dollars en 2013, contre 3.18 milliards de dollars à la même période en 2012 reculant de 0.62%. Malgré le triplement de

sa production depuis l'indépendance du pays (en 1962), l'Algérie, reste un des plus gros importateurs de céréales dans le monde (Amarn, 2014).

3- Le stress hydrique

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

Le stress hydrique peut se définir comme le rapport entre la quantité d'eau nécessaire à la croissance de la plante et la quantité d'eau disponible dans son environnement, sachant que la réserve d'eau utile pour la plante est la quantité d'eau du sol accessible par son système racinaire (Laberche, 2004). La demande en eau de la plante est quant à elle déterminée par le niveau de transpiration ou évapotranspiration, ce qui inclut les pertes d'eau tant au niveau des feuilles qu'au niveau du sol (Laberche, 2004). L'adaptation est un mécanisme nécessaire pour les variétés à adopter dans les régions arides et semi- arides, pour tolérer la sécheresse (Slamaetal., 2005).

4-Stratégies de la réponse des plantes au stress hydrique

Pour lutter le manque d'eau, les plantes développent plusieurs stratégies adaptatives qui varient en fonction de l'espèce et des conditions du milieu (Esquive, Evitement et tolérance). La tolérance d'une plante à une contrainte hydrique peut être définie, du point de vue physiologique, par sa capacité à survivre et à s'accroître et, du point de vue agronomique, par l'obtention d'un rendement plus élevé que celui des plantes sensibles. La tolérance globale d'une plante vis-à-vis du déficit hydrique est la résultante de nombreuses modifications phonologiques, anatomiques, morphologiques, physiologiques et biochimiques. Ces dernières interagissent pour permettre le maintien de la croissance, du développement et de la production (Passioura, 2004).

4-1- La stratégie d'esquive :

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

4-2- La stratégie d'évitement

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

4-2-1. Mécanismes morphologiques

a- Réduction de la conduction stomatique

La réduction de la perte en eau par la fermeture stomatique est un moyen d'adaptation des plantes au stress hydrique. Si la fermeture des stomates permet à la plante de réduire la sortie d'eau, elle limite aussi l'entrée de CO₂ (Benhamou, 2009). Cette diminution de la transpiration peut engendrer une réduction de la photosynthèse (Hopkinsw, 2003). La régulation de la conductance stomatique reste le mécanisme majeur intervenant à court terme pour limiter les pertes d'eau: le potentiel hydrique foliaire sera maintenu d'autant plus longtemps que la fermeture des stomates est précoce (Maury et *al.*, 2011) .

b- Réduction de la croissance foliaire :

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

c- Développement racinaire accru :

L'efficacité de l'extraction de l'eau du sol par les racines figure parmi les types d'adaptation permettant à la plante d'éviter ou, plus exactement, de retarder la déshydratation de ses tissus (Turner et *al.*, 2001). L'augmentation de l'absorption peut être due à l'extension de l'absorption en profondeur et en surface, à la vitesse de croissance et de ramification des racines (Laurent et Sané, 2007). L'absorption d'eau est maximisée par un ajustement autrement dit, un investissement élevé au niveau des racines (Jackson et *al.*, 2000).

4-2-2- Mécanismes physiologiques :

Au niveau cellulaire, la réduction du module d'élasticité permet aux cellules de conserver un potentiel élevé malgré un dessèchement important (Tardieu et *al.*, 2006). L'ajustement osmotique par accumulation de soluté dans la vacuole et la réduction de la taille des cellules permettent, pour une même teneur en eau, une diminution du potentiel foliaire et donc un maintien d'un gradient de potentiel hydrique important du sol vers la feuille (Laurent et Sané, 2007). Ce mécanisme tient à la fois de l'évitement et de la tolérance (Jean-pierre et *al.*, 2006).

- **L'état hydrique de la plante**

La caractérisation du statut hydrique d'une plante pourrait passer par la seule évaluation de la teneur relative en eau. Clarke et Mc Craig, (1982) attirent l'attention sur l'utilisation de la teneur relative en eau comme indicateur de l'état hydrique de la plante sous stress. Scofield et *al.*, (1988) notent que la teneur en eau diminue lorsque le stress augmente, mais elle diminue plus vite chez les variétés sensibles que chez les variétés résistantes. La teneur en eau en plus de sa relation avec le volume cellulaire reflète plus précisément la balance entre l'eau disponible dans la feuille et le taux de transpiration, le potentiel osmotique et de turgescence. ElHakimi et *al.*, (1995) montrent que cette caractéristique présente un coefficient d'héritabilité élevé et qu'elle se fixe rapidement chez les lignées en ségrégation d'un croisement donné. Ainsi, les variétés tolérantes au stress hydrique, sont celles qui sont capables de perdre le moins d'eau par unité de temps et unité de surface, sous stress.

4-3- La stratégie de tolérance

Cette stratégie consiste à maintenir les fonctions de la plante, croissance, transpiration et la photosynthèse, malgré le déficit hydrique (Jean-pierre et *al.*, 2006). La tolérance à la déshydratation implique des mécanismes intracellulaires qui visent à préserver l'intégrité structurale et fonctionnelle des tissus lorsque le potentiel hydrique diminue (Laurent et Sané, 2007). L'ajustement osmotique est un exemple d'une telle adaptation, il permet le maintien d'une turgescence positive pour des teneurs en eau relativement faible (Hopkinsw, 2003). L'ajustement osmotique, il consiste en la synthèse des molécules solubles, ce qui se traduit par une plus grande capacité d'attraction et de rétention des molécules d'eau. Ces molécules, appelées osmoticum, s'accumulent le plus souvent dans le cytoplasme (Nabors, 2008). Cette forte accumulation de solutés ioniques ou organiques dans les cellules provoque une diminution du potentiel osmotique. Les principales substances accumulées en réponse aux stress osmotiques peuvent être des acides aminés (proline, alanine), des sucres (saccharose, tréhalose, fructanes), des ions quaternaires (bétaines, proline- bétaine), des ions

inorganiques (K⁺) ou encore des acides organiques (malate, glutamate, citrate), des hormones (acide abscéique) (Hopkinsw. 2003). La nature des osmolytes impliqués dans l'ajustement osmotique est généralement spécifique de l'espèce étudiée. Les solutés organiques ne perturbent généralement pas ou peu le métabolisme des cellules et sont qualifiés à ce titre d'osmoticum compatibles (Radhouane,2011).

4-3-1. L'Accumulation des sucres solubles

Les sucres sont considérés par plusieurs auteurs comme des bons osmorégulateurs qui peuvent jouer un rôle important dans l'ajustement osmotique et l'adaptation des plantes à la sécheresse (Slam, 2002). Les sucres sont qualifiés d'osmolytes compatibles. Les osmolytes compatibles s'accumulent principalement dans le cytosol. Un osmolyte compatible est une molécule qui reste exclue de la surface d'une protéine et de sa sphère d'hydratation proche, qui tend à stabiliser sa structure spatiale, elles protègent les membranes contre la déshydratation.

Généralement on pense que l'accumulation des sucres solubles peut avoir comme origine l'hydrolyse des réserves en particulier l'amidon mais aussi une modification du métabolisme carboné (Lepoivre , 2003). Beaucoup d'auteurs ont mis en évidence le rôle protecteur des sucres sur les membranes, en particulier mitochondriales. Leur présence permettrait le maintien des réactions de phosphorylation et de production d'énergie. Outre ce rôle protecteur des membranes, les hydrates de carbone protègent les processus par lesquels les enzymes sont synthétisés ce qui impliquerait une meilleure tolérance de la plante à la dessiccation et une meilleure résistance à la sécheresse. Concernant les sucres solubles, Folkert *et al.*, (2001) remarquent que les variations de teneur chez le blé dur sont beaucoup plus faibles que dans le cas de la proline.

4-3-2. La teneur en chlorophylle

Sous un stress hydrique, une diminution de la teneur en chlorophylle est remarquée chez le blé dur (Bousba *et al.*, 2009). Pour limiter les pertes en eau par évaporation et aussi l'augmentation de la résistance à l'entrée du CO₂ atmosphérique nécessaire à la photosynthèse, l'économie de l'eau se traduit par une turgescence relative moins affectée par le stress conduisant à une dilution de la chlorophylle (Slayter,1974 in Mouellef,2010). Le rapport chlorophylle (a/b) est un bon indicateur du seuil de tolérance au stress hydrique (Guettouche, 1990 in Mouellef, 2010). Tahri *et al.*, (1997) montrent que l'augmentation de la teneur en proline foliaire sous l'effet du stress suivie par un abaissement dans les teneurs en pigments chlorophylliens totaux (Chlorophylles a et b). Les résultats de Tahri *et al.*(1997) révèlent une certaine proportionnalité, mais inverse, entre les teneurs en proline accumulées et les teneurs en pigments chlorophylliens perdues. Ainsi la variété qui accumule plus de

proline est aussi celle qui connaît la plus forte diminution de ses teneurs pigments chlorophylliens et vice versa (Tahri et *al.*, 1997 in Mouellef, 2010).

5- Amélioration génétique du blé

L'objectif des sélectionneurs est de rassembler dans une plante d'une espèce donnée, le maximum des caractères favorables (Goacolou et Perdrizet, 1988) qu'on pourra nommer à la fin une plante élite. L'amélioration des plantes vise à créer des variétés qui répondent aux besoins de l'agriculteur, mais aussi à ceux de tous les utilisateurs de produit récolté : consommateur, industriel, intermédiaires de la commercialisation, du stockage, de la transformation...etc.

L'évolution permanente des conditions climatiques, écologiques, sociales et économiques conduit à un ajustement continu des objectifs (Feldmann et Feyt, 1998). Deux types d'objectifs sont le plus souvent recherchés : le rendement et la qualité (Gallais et Bannerot, 1992). La productivité qui est la capacité potentielle d'une variété à produire des rendements élevés quand les conditions optimales sont réalisées, la productivité est donc étroitement dépendante du milieu, elle est sous la dépendance de plusieurs gènes (Lafon et *al.*,1998).

6- Sélection

La sélection de la tolérance à la sécheresse devrait se concevoir selon une approche synthétique reliant un ensemble de mécanismes dont l'intégration pourrait améliorer le rendement en conditions de déficit hydrique.

La difficulté d'identifier et de caractériser les paramètres de la tolérance au stress hydrique chez les plantes, à travers l'observation d'un caractère phénotypique complexe et de faible héritabilité, comme le rendement en conditions de déficit hydrique, a conduit à s'intéresser à des critères morpho-physiologiques de la tolérance à la sécheresse.

Des approches analytiques, consistant à isoler et à étudier individuellement un mécanisme de résistance donné, *via* l'observation d'un paramètre particulier (critère de sélection) ont été proposées. Plusieurs critères physiologiques et biochimiques ont été ainsi identifiés dans le but de distinguer les variétés sensibles des variétés résistantes au stress hydrique : accumulation de proline, des sucres, induction de protéines spécifiques, résistance stomatique, fluorescence chlorophyllienne. Le but principal de tout programme de sélection est la production de variétés possédant un rendement élevé et stable. (Monneveux ,1991).

6-1- La sélection pour améliorer l'adaptation

Depuis les premières sélections faites par l'homme, basé uniquement sur certains aspects agronomiques du blé, la sélection a bien évolué et recouvre un ensemble d'activités techniques et scientifiques très diversifiées. Bien que les découvertes techniques et génétiques tendent actuellement à raccourcir les délais de création de nouveaux cultivars, il faut environ 10 à 15 ans pour mettre une nouvelle variété sur le marché (Demarly,1987).

Les objectifs de la sélection de blé ne sont pas uniquement d'obtenir de bons rendements avec des variétés bien adaptées aux techniques culturales hautement mécanisées mais également, d'améliorer les facteurs de régularité de ce rendement et la qualité technologique du produit. Le sélectionneur devra donc réunir dans un même génotype des caractères souvent antagonistes tels qu'une production élevée régulière et une haute teneur en protéines (Picard, 1988).

Les méthodes de sélection génétique sont responsables d'environ 50 à 60% de l'accroissement de productivité observé au cours des quarante dernières années (Picard, 1988). Cependant, plusieurs problèmes se posent comme la perte de la variabilité génétique (dérive génétique) due à l'élimination nécessaire et consciente de grandes quantités de lignées au cours de la sélection, mais aussi au choix limité de géniteurs.

Pour éviter cette perte, une stratégie globale a été mise en œuvre : la sélection récurrente d'après la théorie énoncée par Gallais (1977). Grâce à cette méthode, des populations peuvent servir à la création variétale tout en conservant une bonne variabilité (Rharrabti*et al.*, 2001).

Parmi les nouvelles méthodologies de sélection, l'utilisation de méthodes d'association phénotype/génotype (Ibrokhim *et al.*, 2008 in Bousba, 2012), grâce aux techniques de génotypage moléculaire à l'aide de marqueurs moléculaires, Le principe est de réaliser une corrélation statistique entre la variation phénotypique observée pour un caractère et la variation allélique observée au niveau génétique. Les marqueurs les plus couramment utilisés sont les microsatellites. Ces microsatellites sont hautement polymorphes par la variation du nombre de répétitions et de ce fait très informatifs (Bousba *et al.*, 2012). De plus, ils sont facilement détectables par la technique de réaction de polymérisation en chaîne (PCR) et reproductibles. Cependant, ces marqueurs sont fréquemment utilisés, car plus de 2000 microsatellites hautement polymorphes ont été ordonnés de manière précise (en moyenne, 1 tous les 1.6 cM) (Dib *et al.* 1996 in Bousba, 2012). Ainsi que le degré de polymorphisme élevé des microsatellites est fortement apprécié pour les études d'association génétique ou, pour la cartographie de gènes impliqués dans la tolérance aux stress abiotiques (Bousba *et al.*, 2013).

6-2- Un Marqueur moléculaire

Un marqueur moléculaire est un locus polymorphe qui renseigne sur le génotype de l'individu qui le porte. Un bon marqueur doit être à hérédité simple, neutre (aucun effet sur le phénotype), insensible au milieu, non épistatique, multi-allélique et Co-dominant. Les marqueurs moléculaires correspondent donc au polymorphisme révélé au niveau de l'ADN. L'analyse de ce polymorphisme par les techniques de biologie moléculaire s'adresse à l'ensemble du génome, qu'il soit ou non traduit en protéines, et est indépendante des conditions de l'environnement. En outre, le nombre de marqueurs observables est théoriquement illimité et le génotype d'une plante peut être déterminé à un stade très précoce, aussitôt que le matériel est disponible pour l'extraction de l'ADN. Ces marqueurs seront d'une grande importance dans l'amélioration des cultures à valeur agronomique et dans les programmes de sélection assistée par marqueurs chez les céréales (Dekkers, Hospital, 2002).

De nombreuses techniques de marquage moléculaire sont aujourd'hui disponibles, et de nouvelles sont régulièrement publiées (Rafalski, 2002a, b). Les caractéristiques de chacune de ces techniques, ses domaines d'applications, son principe et son coût sont largement détaillés dans plusieurs articles de synthèse (Langridge et *al.*, 2001). Ces méthodes peuvent être regroupées en deux grandes catégories : les marqueurs de type RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) et les marqueurs basés sur la méthode de PCR (Polymérase Chain Réaction). Le choix du système de marquage dépend de l'objectif précis fixé, des moyens et des compétences disponibles au laboratoire. Nous décrirons brièvement les principaux systèmes de marquage moléculaire appliqués chez le blé. Bien que cette technique soit Co-dominante et permette une analyse génétique complète, elle est lente et laborieuse.

- **Les principaux types de marqueurs moléculaires**

Il existe différents types de marqueurs moléculaires correspondant à différentes techniques. Le principe de base est toutefois identique. L'ADN est constitué de 4 bases (ATGC); l'ordre de succession de ces bases tout le long des chromosomes constitue l'information génétique contenue dans l'ADN. Il existe, entre deux variétés, une multitude de différences dans cet ordre de succession: il peut s'agir de la substitution ponctuelle d'une base par une autre ou encore de l'insertion d'un fragment d'ADN en un lieu précis du chromosome. L'utilisation d'un marqueur moléculaire permet de visualiser l'une, voire plusieurs de ces différences. (Samouelian et *al.*, 2009)

Ces marqueurs seront d'une grande importance dans l'amélioration des cultures à valeur agronomique et dans les programmes de sélection assistée par marqueurs chez les céréales.

Le choix du système de marquage dépend de l'objectif précis fixé, des moyens et des compétences disponibles au laboratoire. Les marqueurs les plus largement utilisés chez le blé sont :

- Marqueurs RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphisme) détectables par la technique de Southern ;
- Les microsatellites ou SSR (Simple Sequence Repeat), détectables par la technique de PCR ;
- L'AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) et
- La RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA). (Gallais. 2013)

Tableau. 01 : présentation des marqueurs moléculaires RFLP, AFLP et SSR (Bousba, 2012)

Marqueurs	Avantages	Inconvénients
RFLP	<ul style="list-style-type: none"> • La RFLP est une méthode fiable et facilement transférable entre laboratoires • Il s'agit d'un marqueur co dominant • Aucune information sur la séquence n'est requise • La technique est principalement basée sur des homologies de séquences, elle peut être utilisée pour des analyses phylogénétique entre espèces. • Elle est utilisée pour faire des cartes génétiques de liaisons. • Il s'agit d'un marqueur locus spécifique qui peut également permettre l'étude de synthésies. • La RFLP est une technique simple ne nécessitant pas de sondes particulières. 	<ul style="list-style-type: none"> • La RFLP nécessite une grande quantité d'ADN • Elle n'est pas automatisable vu les étapes de transfert et d'hybridation • Certaines espèces possèdent un taux peu élevé de polymorphisme. • Un faible nombre de locus sont détectés par expérience. • Cette technique nécessite d'avoir recours à une banque des sondes • La méthode est peu rapide • Son coût est élevé • Il est possible de transmettre les sondes entre laboratoires
AFLP	<ul style="list-style-type: none"> • L'AFLP permet un survol rapide de l'ensemble du polymorphisme du génome • Elle est hautement reproductible • Il n'ya pas besoin de connaître une séquence et de créer des sondes spécifiques. • Elle permet la création facile et rapide de cartes génétique • L'AFLP permet la création d'un profil de transcrits qui reflète l'expression et la répression de gènes (AFLP- cDNA) • Cette technique peut être appliquée à de nombreuses espèces (animaux, plantes et bactéries). • L'AFLP ne nécessite aucune connaissance préalable de séquences du génome de la plante étudiée, ni la construction des banques génomiques ou cDNA , à l'encontre des SSR ou des RFLP. 	<ul style="list-style-type: none"> • La génération d'une grande quantité d'information nécessite une analyse automatisée et la technologie informatique • Ce sont des marqueurs dominants • Les marqueurs AFLP sont : souvent localisés aux centromères et aux télomères • Le laboratoire doit être formé dans l'analyse de données. • L'AFLP, étant couverte par un brevet de la société néerlandaise Key gene qui a mis au point cette technique, est une méthode couteuse. • Ces différences limitent l'utilisation de l'AFLP à grande échelle pour des applications comme la sélection assistée par marqueurs.
SSR	<ul style="list-style-type: none"> • Les microsatellites sont des marqueurs co-dominants. 	<ul style="list-style-type: none"> • La préparation des microsatellites est très lourde car il faut cribler une banque

	<ul style="list-style-type: none"> • Ils sont très largement utilisés • Il ya une grande fréquence de SSR dans le génome • Les microsatellites sont bien répartis à travers tout le génome • Ils sont reproductibles • Les microsatellites sont faciles à manipuler • On observe un polymorphisme élevé de SSR dans la population humaine. 	<p>génomique enrichie avec une sonde du microsatellite, séquencer les clones positifs, synthétiser les amorces oligonucléotidiques et tester les paires d'amorces dans un échantillons d'individus</p>
--	--	--

7- Sélection assistée par marqueurs (SAM)

. La SAM peut également aider à accumuler dans une plante des gènes de tolérance complémentaires pour une même contrainte, de façon à obtenir une résistance multi génique qui sera potentiellement plus stable. Le phénotype seul ne permet pas de différencier les individus cumulant deux ou plusieurs résistances de ceux possèdent qu'une, rendant le recours aux marqueurs indispensable. La SAM a cependant ses limites. Comparée aux méthodes de sélection traditionnelles cette nouvelle technologie n'est pas compétitive en termes de cout et de temps lorsque le phénotype peut être déterminé facilement (hauteurs des plantes, précocité, tolérance ou résistance aux contraintes...) (Moulet et *al.*,2009).

La SAM est basé sur la possibilité de détecter la présence d'un gène ou d'une caractéristique agronomique intéressante par la recherche du marqueur qui lui est étroitement lié. Les perspectives d'application des marqueurs moléculaires en sélection sont nombreuses. La SAM est non destructif, elle nécessite peu de tissu végétal et elle n'est pas influencée par des facteurs environnementaux. Ce type de sélection est particulièrement avantageux lorsque le caractère étudié est difficile, coûteux à évaluer ou influencé par les conditions climatiques ou pédologiques (résistance au stress hydrique, tolérance à l'aluminium, résistance à la germination sur pied, etc.). Le sélectionneur doit fréquemment anticiper les problèmes, par exemple en améliorant la tolérance aux contraintes abiotiques et la résistance contre les contraintes biotiques (Neuchtel,2009).

L'amélioration des plantes repose sur deux éléments essentiels, d'une part disposer de larges ressources génétiques et d'autre part sélectionner les rares combinaisons appropriées dans le but d'apporter l'amélioration recherchée. Les marqueurs permettent d'évaluer et de structurer ces ressources génétiques (*core-collections*) en identifiant un nombre limité de variétés représentatives de la totalité de la collection. Ces *corecollections* permettent d'optimiser le choix des géniteurs en sélectionnant les cultivars possédant des allèles favorables complémentaires.

La SAM présente encore un grand intérêt dans les programmes d'introggression destinés à modifier de manière ciblée un matériel génétique existant, en remplaçant un segment

chromosomique initial par un segment porteur de caractéristiques favorables provenant d'un autre matériel (Figure05). Cette approche suppose de croiser deux lignées, l'une considérée comme le parent donneur, l'autre comme le parent receveur, puis d'éliminer progressivement par rétro-croisements successifs (*back-cross*) le génome du parent donneur, tout en conservant de façon ciblée le segment d'intérêt. Les plantes porteuses des allèles favorables peuvent être identifiées à l'aide de marqueurs.

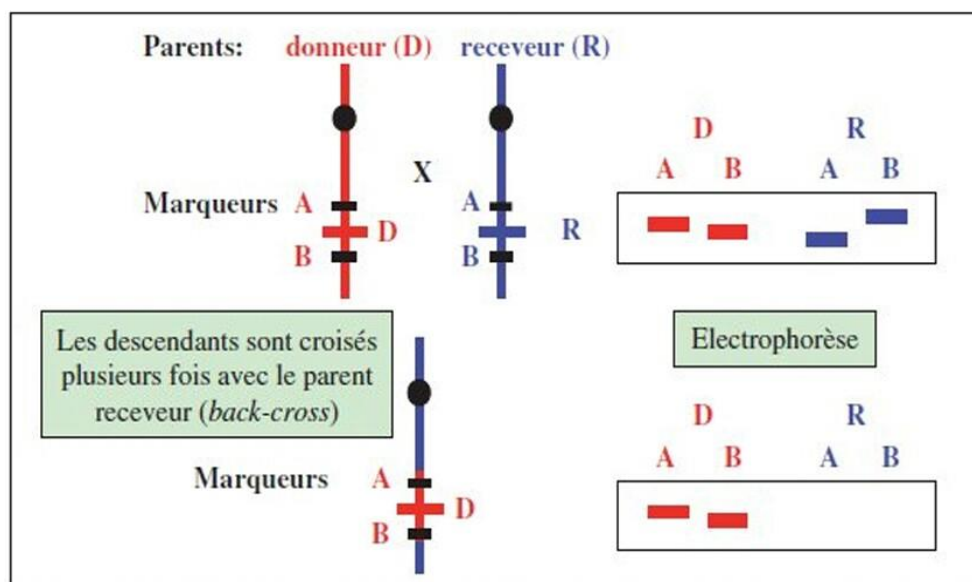


Figure 05:Phylogénie du blé dur (Debiton, 2010).

La SAM peut également aider à accumuler dans une plante des gènes de tolérance ou de résistance complémentaires pour une même contrainte, de façon à obtenir une tolérance ou/ résistance multi génique. Le phénotype seul ne permet pas de différencier les individus cumulant deux ou plusieurs tolérance ou/ résistances de ceux qui n'en possèdent qu'une, rendant le recours aux marqueurs indispensable.

La SAM a cependant ses limites. Comparée aux méthodes de sélection traditionnelles, cette nouvelle technologie n'est pas compétitive en termes de coût et de temps lorsque le phénotype peut être déterminé facilement (hauteurs des plantes, précocité, tolérance à la sécheresse, résistance à certaines maladies...). Par ailleurs, pour la sélection de caractéristiques agronomiques à déterminisme génétique complexe, comme le rendement par exemple, gouvernées par un grand nombre de gènes ou de QTL qui interagissent et dont la plupart sont encore inconnus, la SAM est actuellement un outil inefficace.

7-1- L'utilisation des microsatellites comme marqueur dans la sélection des plantes:

7-1-1. Les microsatellites ou SSR

Les Marqueurs microsatellites SSR (Simple Sequence Repeat) sont spécifique d'un locus et liés la présence de répétition en tandem, formées de motifs de 1 à 6 nucléotides et dispersées dans l'ensemble du génome. Ils sont très nombreux (1SSR en moyenne pour 21 Kpb chez les dicotylédones, 1 pour 65 Kpb chez les monocotylédones) et en forment polymorphes en raison d'une variation du nombre de répétitions (Samouelian et *al.* 2009).

Les microsatellites dit nucléotides les plus fréquents chez les plantes sont (AT)_n avec n comparait entre 5 et 30. Bien que distribuées en de très nombreux loci, les microsatellites peuvent être délectes à des loci spécifiques, des sites STS, en utilisant comme amorces pour la réaction de PCR des oligonucléotides spécifique des séquences génomiques des espèces analysées. Le repérage de microsatellites peut être effectué par simple interrogation des bases de données à l'aide des programmes d'un analyse de séquences disponible ; l'interrogation est suivie d'une vérification de la réalité du polymorphisme par des réaction de PCR sur différentes plantes, les tailles des fragments amplifiés étant relativement petites et les différences de taille étant faibles, la détection du polymorphisme lie aux microsatellites est réalisée en électrophorèse en gel de polyacrylamide. L'utilisation d'amorces radio marquées ou fluorescentes augmente la sensibilité de la détection (Samouelian et *al.*, 2009).

7-1-2. L'application de SAM microsatellites dans l'amélioration du blé au stress abiotique:

Une recherche a été menée chez une population Flissus de différents croisements, les grains ont été semés dans deux essais irrigués et sans irrigation, avec l'utilisation de quarante marqueurs de types BARC (Tableau.02), dont l'objectif est de détecter la liaison entre les marqueurs et la tolérance à la sécheresse leurs motifs et leurs références peuvent être tirés du site ; http://www.scabusa.org/pdfs/BARC_SSR_011101.xls

Les résultats obtenus de cette étude montrent la présence de 112 allèles notes chez les quarante amorces SSR avec une moyenne de 2.8 allèles par locus ce qui montre l'importance de ces marqueurs dans le criblage des génotypes tolérants sous condition de stress abiotique.

Tableau 01: Les amorces utilisées pour analyse SSR dans l'analyse de la tolérance du blé dur à la sécheresse (El-Maghraby et *al.*, 2005)

L'amorce	Motif
----------	-------

BARC004	(TTA) 15
BARC012	(TAA) 28
BARC017	(TAA) 12
BARC018	(TAA) 20
BARC024	(TCA)10+(TAA)9
BARC042	(TTA)12
BARC048	(TATC)11
BARC052	(ATCT)5
BARC062	(TAGA) 8
BARC065	(TAGA) 9
BARC066	(TC) 8(TAGA) 5
BARC069	(TATC) 15
BARC072	(CT) 4(TCTA) 8(TC) 8
BARC074	(GA) 13(GATA) 7(GA) 9
BARC076	(TATC) 7
BARC077	(ATCT) 6+18
BARC078	(TC) 27(TATC) 43
BARC079	(TAGA) 10+(TC) 9
BARC080	(GAA) 12
BARC093	(TTC) 10+3
BARC001	(TAA)8
BARC003	(CCT)17
BARC005	(TTA)5+8
BARC006	(TTA)24
BARC007	(TTC)6+3
BARC008	(TTA)15+11
BARC009	(TAA)3+3+(TTG)6
BARC010	(GAA)13
BARC011	1 (TAA)9+(TTA)12
BARC012	(TTC)5+3+2
BARC013	(TAA)18+12
BARC014	(TTG)9
BARC015	(TAA)18
BARC016	(TAA)21
BARC017	(TAA)19
BARC018	(TAA)9
BARC019	(TAA)22+(GAA)10
BARC020	(ATT)8
BARC021	(TAA)8
BARC022	(ATT)9
BARC023	
BARC024	
BARC025	
BARC026	
BARC027	
BARC028	

Une autre étude a été menée par Somers and Isaac, 2004 sur un autre type de marqueur SSR (wmc) en relation avec le stress abiotique (Tableau 04) chez 14 variétés de blé dur et tendre (locales et introduites).

Tableau 02 : Les marqueurs microsatellites et les amorces utilisées (Somers et Isaac, 2004).

Marker	Primer
Wmc603 SSR-7A	F : ACAAACGGTGACAATGCAAGGA R : CGCCTCTCTCGTAAGCCTCAAC
Wmc9 SSR-7A	F : AACTAGTCAAATAGTCGTGTCCG R : GTCAAGTCATCTGACTTAACCCG

Wmc596 SSR	F : TCAGCAACAAACATGCTCGG R : CCCGTGTAGGCGGTAGCTCTT
---------------	---

Cette étude a aussi révélé l'importance du chromosome 7A dans la tolérance au stress hydrique chez le blé dur. Ainsi que les marqueurs Xwmc9, Xwmc596 et Xwmc603 montrent un polymorphisme chez les deux cultivars algériens de blé. (*Triticum durum* et *Triticum aestivum*) en comparaison avec les cultivars roumains

Ce même type de marqueurs a été aussi étudié par Bousba et *al.*, 2013, avec l'utilisation d'un autre type de marqueurs obtenus par le site gènebank (Wms) (Tableau 05) le génotype a été réalisé sur quarante variétés de blé dur de diverses origines (Locales et introduites).

Tableau 03: Description des marqueurs SSR utilisés dans l'étude de la tolérance au stress hydrique chez le blé dur (Bousba et *al.*, 2013).

Marker	Forward Primer (5' -> 3')	Reverse Primer (5' -> 3')
<i>WMC54</i>	TATTGTGCAATCGCAGCATCTC	TGCGACATTGGCAACCACTTCT
Wmc63	GTGCTCTGGAAACCTTCTACGA	CAGTAGTTTAGCCTTGGTGTGA
<i>WM</i> <i>C78</i>	AGTAAATCCTCCCTTCGGCTTC	AGCTTCTTTGCTAGTCCGTTGC
<i>WMC</i> <i>105</i>	AATGTCATGCGTGTAGTAGCCA	AAGCGCACTTAACAGAAGAGGG
<i>WMC</i> <i>150</i>	CATTGATTGAACAGTTGAAGAA	CTCAAAGCAACAGAAAAGTAAA
<i>WMC</i> <i>153</i>	ATGAGGACTCGAAGCTTGGC	CTGAGCTTTTGCGCGTTGAC
<i>WMC</i> <i>165</i>	CACACTCGCACGATTTTCCTAT	TCGGTTACACTGGAAGTGGTCT
<i>WMC</i> <i>167</i>	AGTGGTAATGAGGTGAAAGAAG	TCGGTCGTATATGCATGTAAAG
<i>WMC</i> <i>168</i>	AACACAAAAGATCCAACGACAC	CAGTATAGAAGGATTTTGAGAG
<i>WMC</i> <i>177</i>	AGGGCTCTCTTTAATTCTTGCT	GGTCTATCGTAATCCACCTGTA
<i>WMC</i> <i>179</i>	CATGGTGGCCATGAGTGGAGGT	CATGATCTTGCGTGTGCGTAGG
<i>WMC</i> <i>235</i>	ACTGTTCCATCCGTGCACTGG	GAGGCAAAGTTCTGGAGGTCTG
<i>WM</i> <i>307</i>	GTTTGAAGACCAAGCTCCTCCT	ACCATAACCTCTCAAGAACCCA
<i>WMC</i>	CGCCCCACTATGCTTTG	CCCAGTCCAGCTAGCCTCC

322		
<i>WMC</i> 445	AGAATAGGTTCTTGGGCCAGTC	GAGATGATCTCCTCCATCAGCA
<i>WM</i> S06	CGT ATC ACC TCC TAG CTA AAC TAG	AGC CTT ATC ATG ACC CTA CCT T
<i>WMS</i> 108	ATT AAT ACC TGA GGG AGG TGC	GGT CTC AGG AGC AAG AAC AC
<i>WMS</i> 118	GAT GGT GCC ACT TGA GCA TG	GAT TG TCA AAT GGA ACA CCC
<i>WMS</i> 135	TGT CAA CAT CGT TTT GAA AAG G	ACA CTG TCA ACC TGG CAA TG
<i>WMS</i> 149	CAT TGT TTT CTG CCT CTA GCC	CTA GCA TCG AAC CTG AAC AAG
<i>WMS</i> 169	ACC ACT GCA GAG AAC ACA TAC G	GTG CTC TGC TCT AAG TGT GGG
<i>WMS</i> 198	TTG AAC CGG AAG GAG TAC AG	TCA GTT TAT TTT GGG CAT GTG
<i>WM</i> S30	ATC TTA GCA TAG AAG GGA GTG GG	TTC TGC ACC CTG GGT GAT TGC
<i>WMS</i> 304	AGG AAA CAG AAA TAT CGC GG	AGG ACT GTG GGG AAT GAA TG
<i>WMS</i> 375	ATTGGCGACTCTAGCATATA CG	GGGATGTCTGTTCCATCTTGC

Les résultats de cette recherche montrent que ces marqueurs ont été associés avec la tolérance à la sécheresse chez le blé dur avec l'enregistrement d'un polymorphisme de ces marqueurs et la présence ou l'absence de ces marqueurs chez les génotypes tolérants à la sécheresse.

A decorative wreath made of golden wheat stalks, arranged in a circular pattern. A ribbon is tied around the bottom of the wreath, with two long, flowing tails hanging down. The entire wreath is set against a white background.

**Matériel
et
méthodes**

Chapitre II

1- Matériel végétal

Le présent travail a porté sur quatre génotypes de blé dur (*Triticum durum* Desf) d'origine locale et introduites (Tableau.05), Les semences ont été fournies par la station expérimentale de Khroub (l'ITGC) Constantine.

Tableau 05: Les génotypes étudiés et leurs origines

Génotypes	L'origine
Joric 69	CIMMYT (Mexico)
Mouhamed Ben Bachir	Algérie
Sigus	Algérie (ITGC elkhroub)
Ofonto	Italie

2- Mise en place de l'essai

L'expérimentation a été réalisée au niveau du laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologies Végétales (GBBV), équipe II Amélioration des plantes à Chaabet El Rasses, université Des Frères Mentouri, Constantine. Elle fait partie d'un projet national de recherche (CNEPRU).

Cette expérimentation consiste à analyser le comportement de quelques variétés de blé dur cultivées dans le sol sous serre avec des paramètres : température, photopériode et soumises à un stress hydrique par l'arrêt d'irrigation pendant 15 jours.

3- plan expérimental

3-1- La Germination des graines et mise en culture

Les grains choisis ont été désinfectés dans une solution d'eau de l'hypochlorite sodium à 10% puis ils ont été rincés 3 fois avec de l'eau distillée ; et placés dans des boîtes de Pétri sur un papier filtre imbibé d'eau pendant 3 jours dans des conditions ambiantes du laboratoire : température variante entre 20-25°C et à l'obscurité.

Les semences germées ont été ensuite repiquées dans des pots de 5 Kg à raison de 5 plantules par pot. Chaque pot contient un mélange de sol agricole de la pépinière de Chaabet

El rseset du sable dans les proportions 2 :1.Les pots ont été places sous serre, ils sont irrigues régulièrement 2 fois par semaine

3-2- L'application du stress hydrique

L'étude de l'effet du stress hydrique et les modifications qu'il induit au niveau de la plante a été réalisée après l'obtention de la quatrième feuille.

- **Le premier lot** sert de témoin, il regroupe les plantes irriguée.
- **Le deuxième lot** comprend les plantes soumises à un stress hydrique par l'arrêt d'irrigation pendant 15 jours.

La conception expérimentale était hiérarchique et complètement randomisée avec trois répétitions pour chaque variété.

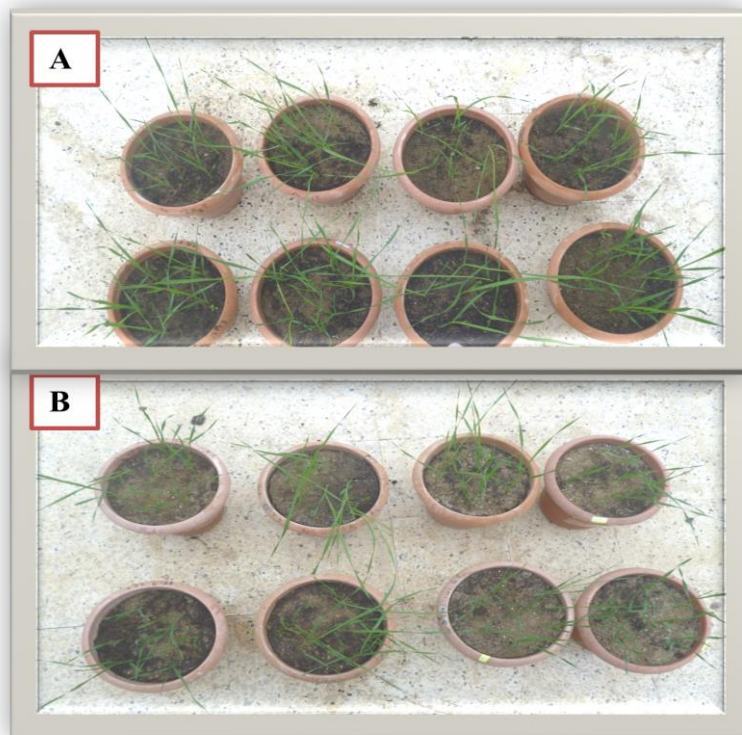


Figure 06 :Dispositif expérimental.

A : les variétés témoins

B : les variétés stressée

4- Les paramètres mesurés

4-1- Le paramètre morphologique

- **La surface foliaire (SF « cm²»)**

La surface foliaire qui concerne la troisième feuille, est déterminée par la méthode de Paul et *al.*, (1979) qui consiste à prendre la feuille de blé dur sur papier calque puis découper les contours de la feuille, ce dernier est pesé (Pf). Un carré de 1cm de côté de ce même papier soit d'une surface de 1 cm² est également pesé (P (1cm²)).

La surface foliaire est calculée par la formule suivante :

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

4-2- Les paramètres physiologiques

Les différents paramètres physiologiques mesurés sont :

4-2-1- La teneur relative en eau (TRE « % »)

La teneur relative en eau de la feuille a été déterminée par la méthode décrite par Barrs, (1968). Selon cette méthode les feuilles sont coupées à la base du limbe, elles sont pesées immédiatement pour obtenir leur poids frais (PF). Ces feuilles sont mises par la suite dans des tubes à essai remplis d'eau distillée à l'obscurité dans un endroit frais, après 24h les feuilles sont retirées dans un papier buvard pour absorber l'eau de la surface, pesées de nouveau pour obtenir le poids de la pleine turgescence (PT). Les échantillons sont enfin mis à l'étuve réglée à 80°C pendant 48h et pesés pour avoir leur poids sec (PS). La teneur relative en eau est calculée par la formule suivante (la formule de Clark et Mac –Caig, 1982) :

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

4-2-2- Le taux de chlorophylle totale (TCT «unité de SPAD»)

L'indice de chlorophylle a été déterminé sur les feuilles avec le chlorophylle mètre SPAD 502. Les lectures sont données en unités appelées SPAD (soil plant analysis development).

L'appareil SPAD a l'aspect d'une pince que l'on garde dans la main; il est plein et léger. Il marque jusqu'à 30 mesures, peuvent être annoncées une à une. Généralement les valeurs perçues se situent entre 40 et 52 (unité SPAD). Il suffit de fermer la pince vide sur elle-même pour équilibrer l'appareil. Par la suite, trois prises de mesure sont effectuées au niveau de la feuille sur trois différents (sommet, milieu, et base). La moyenne des trios valeurs s'affiche sur l'écran à la fin (unité SPAD). Sachant que le temps de chaque mesure est de l'ordre de deux secondes.

4-2-3- L'intégrité cellulaire(IC « % »)

Le test de l'intégrité cellulaire (IC%) a été réalisé selon la méthode décrite par Sullivan (1972). 3feuilles sont prélevées au hasard par traitement et par répétition. Elles sont lavées à l'eau déminéralisée, découpées en segments de 1 cm de long. Les échantillons sont mis dans des tubes auxquels sont ajoutés dix ml d'eau distillée. La méthode consiste à mesurer la conductivité électrique (CE) de l'échantillon en utilisant un conductimètre de marque ConductivityMeter HI9932. La première valeur de la conductivité électrique (CE1) a été relevée sur les échantillons placés à la température ambiante du laboratoire (T=25°C) pendant 24h. La seconde valeur de la conductivité électrique (CE2) est notée 24 heures après le passage des échantillons à l'autoclave à une température de 120°C, pendant 20 mn. Le pourcentage de cellules endommagées (CI%) est estimée sous l'effet de l'augmentation de la température en utilisant la formule suivante :

$$\text{IC (\%)} = (\text{CE}_1/\text{CE}_2) \times 100$$

4-3- Le paramètre biochimique (sucres solubles (Suc) « µg/100mg MF »)

Les sucres solubles totaux (saccharose, glucose, fructose, leurs dérivés méthyles et les polysaccharides) sont dosés par la méthode au phénol de Dubois et al, (1956). Elle consiste à prendre 100 mg de matière fraîche, placées dans des tubes à essais, on ajoute 3 ml d'éthanol à 80% pour faire l'extraction des sucres. On laisse à température ambiante pendant 48h à l'obscurité.

Au moment du dosage les tubes sont placés dans l'étuve à 80°C pour faire évaporer l'alcool. Dans chaque tube on ajoute 20ml d'eau distillée à l'extrait. C'est la solution à analyser. Dans des tubes à essais propres, on met 2ml de la solution à analyser, on ajoute 1ml de phénol à 5% (le phénol est dilué dans de l'eau distillée); on ajoute rapidement 5ml d'acide sulfurique concentré 96% tout en évitant déverser de l'acide contre les parois du tube. On obtient, une solution jaune orange à la surface, on passe au vortex pour homogénéiser la couleur de la solution. On laisse les tubes pendant

10mn et on les place au bain-marie pour 10 à 20mn à une température de 30°C (La couleur de la réaction est stable pendant plusieurs heures.). Les mesures d'absorbances sont effectuées à une longueur d'ondes de 485 nm. Les concentrations sont déterminées à partir de courbe étalon.

4-4- Paramètre moléculaire

4-4-1- L'extraction d'ADN génomique de blé dur

L'extraction de l'ADN génomique se fait selon la technique suivante ::

- Broyer 100mg des échantillons de feuilles dans l'azote liquide
- Préchauffer le tampon d'extraction dans un bain marie à 60°C
- Ajouter au broyer 0.9 ml de CTAB
- Incuber les échantillons dans bain marie 90 min à 65 °C avec agitation
- Centrifugation les tubes à 1000 rpm à 4 °C cependant 30 min
- Récupérer le surnageant en inversant le tube dans un nouveau tube eppendorf numéroté, stoker le culot dans 4°C pour une prochaine extraction
- Ajouter 900 µl de (2chloroforme/1 alcool) au 900 µl du surnageant (1surnageant/1 chloroforme.)
- Mélanger un par un en inversant les tubes 5 à 10 fois et les dégazer
- On passe au prochain tube et ainsi de suite
- Agiter pendant 45 min à vitesse lente sur une table d'agitation
- Centrifugation 15 min à 10000 rpm à 4°C
- Récupérer la phase supérieure à l'aide d'une micropipette P 1000, tout en évitant la phase blanche des protéines, dans un nouveau tube
- Ajouter doucement 350 µl d'isopropanol froid stocké à – 20°C (2/3de volume de 800 µl)
- Mélanger en inversant les tubes doucement vas et Vien pour bien mélanger le contenu et jusqu'à l'apparition de la pelote blanche (ADN).
- Centrifugation à 10000rpm à 4 °C pendant 10 min
- Eliminer le surnageant en inversant les tubes
- Ajouter 500 µl de solution de lavage 1
- Incuber pendant 10 à 15 min à température ambiante
- Centrifuger à 10000rpm à 4 °C pendant 5 min
- Eliminer le surnageant en inversant les tubes
- Ajouter 500 µl de solution de lavage 2
- Incuber pendant 5 min au maximum

- Centrifuger à 10000rpm à 4°C pendant 5 min
- Eliminer le surnageant en inversant les tubes
- Laisser sécher le culot d'ADN à l'air libre pendant 10 à 20 min
- Reprendre le culot dans 100 µl de Tris-EDTA 0.1X
- Conserver les échantillons d'ADN à 4°C pendant une nuit
- quantification des solutions mère à l'aide de nanodrop
- vérification de la qualité d'ADN sur gel d'agarose à 0,8%

4-4-2- PCR (polymérase chaîne réaction)

Tableau 06: Liste des microsatellites utilisés (Somers et al., (2004))

Locus	Chromosome
<i>Barc124</i>	5A et 5B
<i>Wms10</i>	2A, 3A, 7A
<i>Wmc24</i>	1A

Pour la réalisation de la PCR, le volume réactionnel utilisé de 20 µl. vu le nombre des échantillons élevé, qui peut être une source d'erreurs, on a procédé à réaliser l'amplification de l'ADN dans des plaques de 96 puits.

La composition du mélange réactionnel est présentée dans tableau suivant :

Tableau 07 : Composition de mélange réactionnel de la PCR

Réactif de mix	Volume
Ampli Taq @gold 360master Mix(2X)	10 µl
Amorces (10X)	2µl
ADN (5ng)	2µl
H2O ultra-pure (qsp 20µl)	6µl

Les différents cycles de températures pour les réactions PCR ont été réalisés sur un thermocycleur : Gene Amp* PCR system9700 (AppliedBiosystems).

4-4-3- Programme de la PCR

L'amplification des profils microsatellites consiste en une période de dénaturation initiale de l'ADN à 95°C pendant 5 min suivie d'une série de cycles d'amplification différée par la température d'hybridation des amorces. Chaque cycle comprend une dénaturation (étape 1 à 95°C pendant 30 s , une hybridation (étape 2) a différentes températures (52 ,50 , et 51° C)pendant 30 s et une élongation (étape 3) de 1min à 72 °C. après les 30 cycles , une élongation finale à 72 °C a été appliquée durant 10 min.

4-4-4- Electrophorèse et lecture des résultats

Pour la lecture des résultats on a préparé un gel d'agarose de 3% soit 3 g d'agarose dans 100ml de tampon TBE (0,5X).Le gel amené doucement à ébullition dans un four a microonde, ainsi il est refroidi à une température de 50 à 60°C, avant de verser le gel dans le support de la cuve 15 µl de BET ont été rajoute lorsque le gel d'agarose est solidifie, le support contenant le gel est placé dans l'appareil de l'électrophorèse rempli 4µl de charge (6X)(ou bleu de dépôt) dans chaque échantillon ,puis on a déposé 8 ul dans chacun des produits du gel submergé de tampon d'électrophorèse.Dans l'un des puits de chaque gel on a déposé 5ul de marqueur de taille(*ladder*) de100pb (*invitrogene*®)qui permet de vérifier la taille des fragments amplifiés.

La migration des échantillons est effectuée sous 250V pendant 90min, lorsque la migration est terminée on passé à la lecture des résultats. Les fragments d'ADN amplifiés sont visualisés sous lumière Ultra violette. Ainsi le poids moléculaire de ces derniers est déterminé par rapport au marquer de taille. En effet pour faciliter l'analyse et l'archivage des gels, des prises de vue ont été effectué.

5- Traitement des données

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

En ce qui concerne l'analyse de gel d'agarose de l'ADN celui-ci a été traité par le logiciel « *Photocapt 8*».

A decorative graphic featuring a central white oval containing the text 'Résultats et Discussion'. This oval is surrounded by a wreath of golden wheat stalks. Below the oval is a horizontal orange ribbon with a white border, containing the text 'Chapitre III'.

Résultats
et
Discussion

Chapitre III

1- Analyse de paramètres morphologiques

• Analyse de la surface foliaire

La figure n° 07 montre une diminution importante de la taille des feuilles des différents génotypes étudiés en fonction du stress hydrique appliqué en conditions d'irrigation, la variété Mouhamed ben Bachir présente la surface la plus grande contrairement aux variétés Joric 69, Sigus et Ofonto dont les surfaces foliaires sont très proches de l'ordre de 7 cm².

Sous conditions non irriguées, nous avons observé une diminution de la surface foliaire chez les différents génotypes testés, les valeurs obtenues s'étalent entre (08.2 ±4.2) cm², la valeur maximale a été notée chez le génotype Mouhamed ben bachir (8 :2 cm²) et une valeur minimale a été notée chez le génotype Joric 69(4 ,2 cm²).

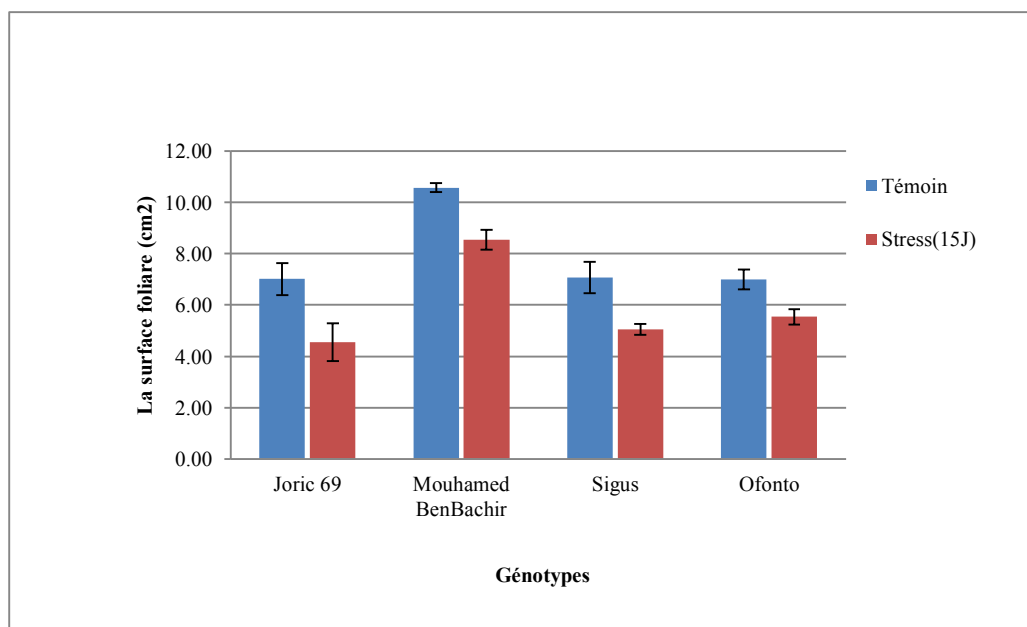


Figure 07 : Variation de la surface foliaire des quatre génotypes de blé dur (Témoin, Stressé).

D'après l'analyse de la variance de traitement variété et traitement stressé et leur interaction on constate l'existence d'une différence très hautement significative.

Le test NEWMAN-KEULS au seuil 5% classe les niveaux de stress en deux groupes, dont la moyenne la plus faible (5,921cm², groupe A) est enregistrée chez le génotype stressé (Joric69), le deuxième groupe B représente la moyenne la plus élevée (7.917) est enregistrée chez le témoin(Mouha,ed Ben Bachir), (Tableau08).

Tableau08: Classement des deux traitements applique chez les quatre variétés pour la teneur en sucres solubles

Traitements	Moyenne	Regroupements
S	5,921	A
T	7,917	B

Le test NEWMAN-KEULS au seuil 5% classe le facteur variété en deux groupes A et B (Tab. 17). Le premier groupe A englobe les trois génotypes soumi au stress hydrique (Joric, Sigus et Ofonto) avec des moyennes générales de 5.783,6.062 et 6.272 cm² respectivement .

Le deuxième groupe B contient les génotypes de MMB qui présente les valeurs de SF la plus maximale 9.560 cm² respectivement (tableau09).

Tableau09: Classement des variétés sous deux traitements d'irrigation pour la surface foliaire (SF)

Variétés	Moyenne	Regroupements
Joric	5,783	A
Sigus	6,062	A
Ofonto	6,272	A
MouhamedBenBachir	9,560	B

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 (Lebon et *al.*, 2004). Le développement végétatif sous conditions limitantes d'alimentation hydrique est fortement perturbé (Ferryra et *al.*, 2004), on note principalement une diminution importante de la taille et de la surface 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 (Lebon et *al.*, 2004).

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).

2- Analyse des paramètres physiologiques

2-1- Analyse de la teneur relative en eau (TRE %)

Les teneurs relatives en eau les plus élevées sont enregistrées chez les témoins irrigués, avec une valeur maximale de 95% observée chez les génotypes Mohamed benbachir et Sigus et une valeur minimale de 89% enregistrée chez le génotype Joric69. (Figure08).

En revanche, on note une diminution de la teneur en eau relative chez l'ensemble des génotypes étudiés sous condition de manque d'eau, la valeur minimale a été notée chez le génotype Joric69 avec 63% et une valeur de TRE maximale (70%) enregistrée chez le génotype Ofonto.

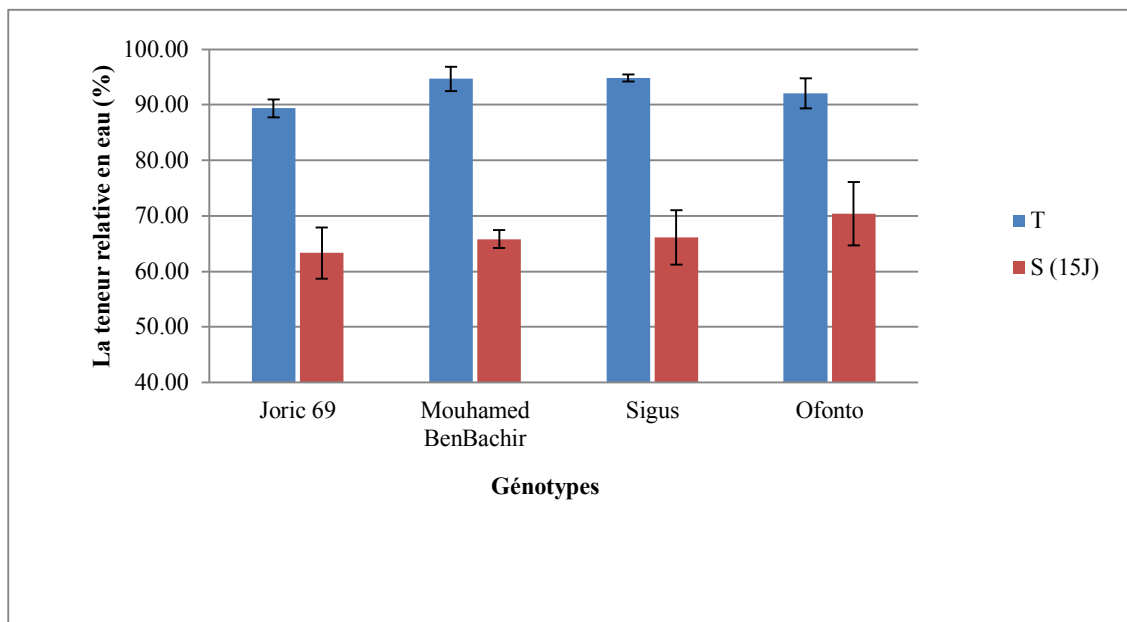


Figure 08 : Variation de la teneur relative en eau des quatre génotypes de blé dur (Témoins, Stressé).

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

Le test NEWMAN-KEULS au seuil 5% classe le facteur traitement ou alimentation hydrique en deux groupes homogènes (Tab. 10). Le premier groupe A (stressé) présente la teneur en eau la plus faible 66,413, par contre le deuxième groupe B (témoin) présente la teneur en eau la plus élevée (Tableau.8).

Tableau10: Classement des deux traitements appliqués chez les quatre variétés pour la teneur relative en eau

Traitements	Moyenne	Regroupements
S	66,413	A
T	92,732	B

Le test NEWMAN-KEULS au seuil 5% classe le facteur variété en seul groupes A, dont l'ordre Joric et Mouhamedbenbachir ,Sigus et Ofonto (Tabl. 11).

Tableau11 : Classement des variétés sous deux traitements d'irrigation pour la teneur relative en eau

Variétés	Moyenne	Regroupements
Joric	76,348	A
MouhamedBenBachir	80,263	A
Sigus	80,468	A
Ofonto	81,210	A

Une diminution de la teneur en eau relative indique la gravité de la déshydratation, alors que l'ajustement osmotique peut échouer à maintenir la turgescence dans les tissus affectés. Il est évident que les génotypes stressés ont montré une diminution de la TRE ; cette variation génotypique pourrait être attribuée à des variations dans le contrôle stomatique de la transpiration (Ding al ; 1989), la capacité d'extraire l'eau par les racines (lilley and fuckai ,1994).

Certaines études précédentes (Jamaux et al ; 1997 ; Altinkutet al ; 2001, colom and vazzana ?2003) ont montré que le maintien d'une TRE relativement élevée en période de stress légère est un indicatif de tolérance à la sécheresse. Le manque d'eau est un élément déterminant pour la croissance des plantes, Particulièrement en région arides et semi arides. Il induit chez les plantes stressées une diminution du contenu relatif en eau, et une réduction significative de la production de biomasse totale (Albouchi et al .,2000). L'analyse de la teneur relative en eau permet de décrire d'une manière globale, le statut hydrique en réponse au stress hydrique, et d'évaluer l'aptitude à réaliser une bonne osmorégulation, et maintenir une turgescence cellulaire (EL Jaafari et al ., 2000).

Casals. (1996) a montré que l'effet dépressif de la carence en eau sur l'état hydrique de la plante peut être irréversible, si la période de stress est prolongée. Un comportement semblable a été observé chez un bon nombre de plantes chez le blé. (Ykhlef, 2001). D'autre part, Matin et al., (1989) in Nouri, (2002) montrent que les génotypes qui maintiennent une TRE élevée dans la présence de stress hydrique sont des génotypes tolérants.

2-2- Analyse du taux de la chlorophylle totale :

Concernant ce paramètre, au niveau du témoin, on note les valeurs du taux de la chlorophylle totale différent selon les variétés .les quatre génotypes marquent des valeurs qui fluctuent entre (50 et 43) U SPAD, les variétés (Joric69, Ofonto, sigus) représente le TCT le plus élevé, avec un maximum chez la variété Joric69 (50U SPAD), tandis que le TCT le plus faible est été noté chez le génotype Mohamed Benbachir (43 U SPAD).

Le taux de la chlorophylle totale diminue en présence du stress hydrique chez les différents géotypes étudiés. On remarque que tous les géotypes testés ont diminué leur TCT par rapport aux témoins, le géotype Joric69 enregistre un taux maximal avec une valeur de (47U SPAD) ; cette diminution devient très importante chez le géotype Mohamed Benbachir qui marque une teneur minimale de (42 U SPAD) (Figure.09).

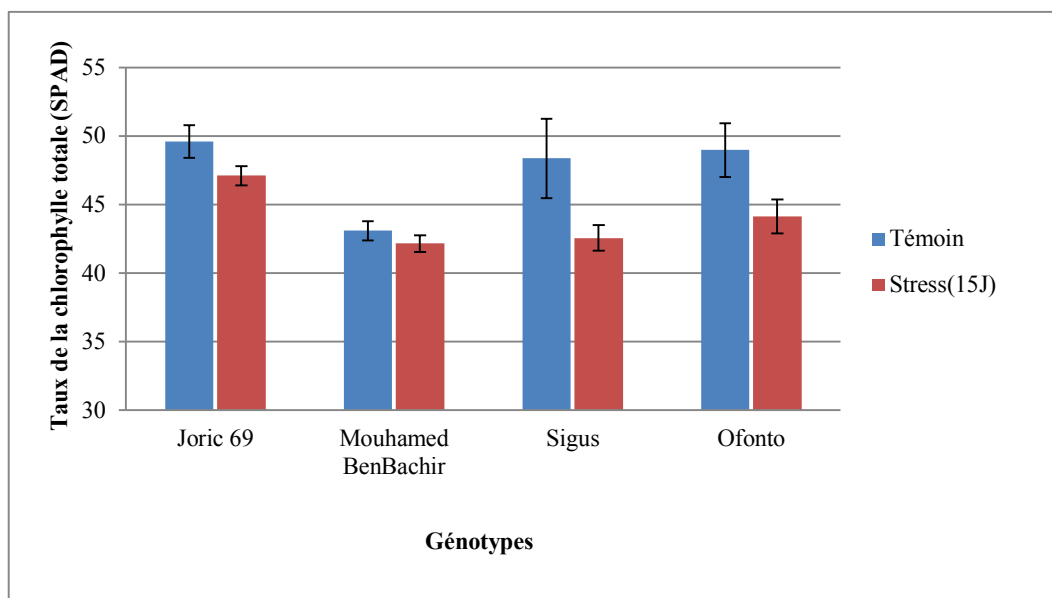


Figure09 : Variation de taux de chlorophylle totale des quatre géotypes de blé dur (Témoins, Stressé).

L'analyse de variance du taux de la chlorophylle total fait ressortir des différences très hautement significatives pour l'effet traitement, variété et leur interaction.

Le test NEWMAN-KEULS au seuil 5% classe le facteur de stress en deux groupes (Tab. 12). Le premier groupe A (stressé) présente le faible TCT avec une moyenne de 43.992. Par contre le deuxième groupe présente le TCT le plus élevé.

Tableau12 : Classement des variétés sous deux traitements d'irrigation pour le taux de la chlorophylle

Traitement	Moyenne	Regroupements
S	43,992	A
T	47,508	B

Le test NEWMAN-KEULS au seuil 5% classe le facteur variété en quatre groupes (Tab. 13). Le premier groupe A présente le génotype (MouhamedBenbchir 42.633 unité de SPAD, Le deuxième groupe B contient les génotypes Sigus 45.467 unité de SPAD, Le troisième groupe intermédiaire BC contient le seul génotype ofonto avec une moyenne de 46.550 unité de SPAD et le dernier groupe C correspond au génotype joric 69 avec une moyenne de 48.350 unité de SPAD

Tableau13: Classement des deux traitements applique chez les quatre variétés pour la taux de chlorophylle totale.

Variétés	Moyenne	Regroupements	
MouhamedBenBachir	42,633	A	
Sigus	45,467	B	
Ofonto	46,550	B	C
Joric 69	48,350	C	

Selon Hireche, (2006) les différentes observations de la teneur en chlorophylle totale entre les génotypes sont liées à la tolérance au stress hydrique, il montre dans ses travaux sur la luzerne que la variété Dessica a tendance à lutter contre le stress hydrique en baissant sa teneur en chlorophylle. Alors que la variété Moapa implique une stratégie inverse (Siakhène, 1984).

L'augmentation des teneurs en chlorophylle totale est la conséquence de la réduction de la taille des cellules foliaires sous l'effet d'un stress hydrique qui engendre une plus grande concentration (Siakhène, 1984). Par contre, la chute des teneurs en chlorophylle est la conséquence de la réduction de l'ouverture des stomates visant à limiter les pertes en eau par évapotranspiration et par augmentation de la résistance à l'entrée du CO₂ atmosphérique nécessaire à la photosynthèse (Bousba et *al.*, 2009). La quantité de la chlorophylle des feuilles peut être influencée par beaucoup de facteurs tels que l'âge des feuilles, la position des feuilles, et les facteurs environnementaux tels que la lumière, la température et la disponibilité en eau (Hikosaka et *al.*, 2006).

2-3- Analyse de l'intégrité cellulaire :

L'intégrité cellulaire la plus élevée est enregistrée chez les témoins avec une valeur maximale de 94% enregistré chez les génotypes Sigus et Ofonto et une valeur minimale de 89% enregistré chez les génotypes Joric69 (Figure.10).

En revanche, on note une diminution de l'intégrité cellulaire chez l'ensemble des génotypes étudiés sous condition de manque d'eau, la valeur minimale a été notée chez le génotype Joric69 avec 86% et une valeur de IC maximale 92% enregistrée chez le génotype Ofonto.

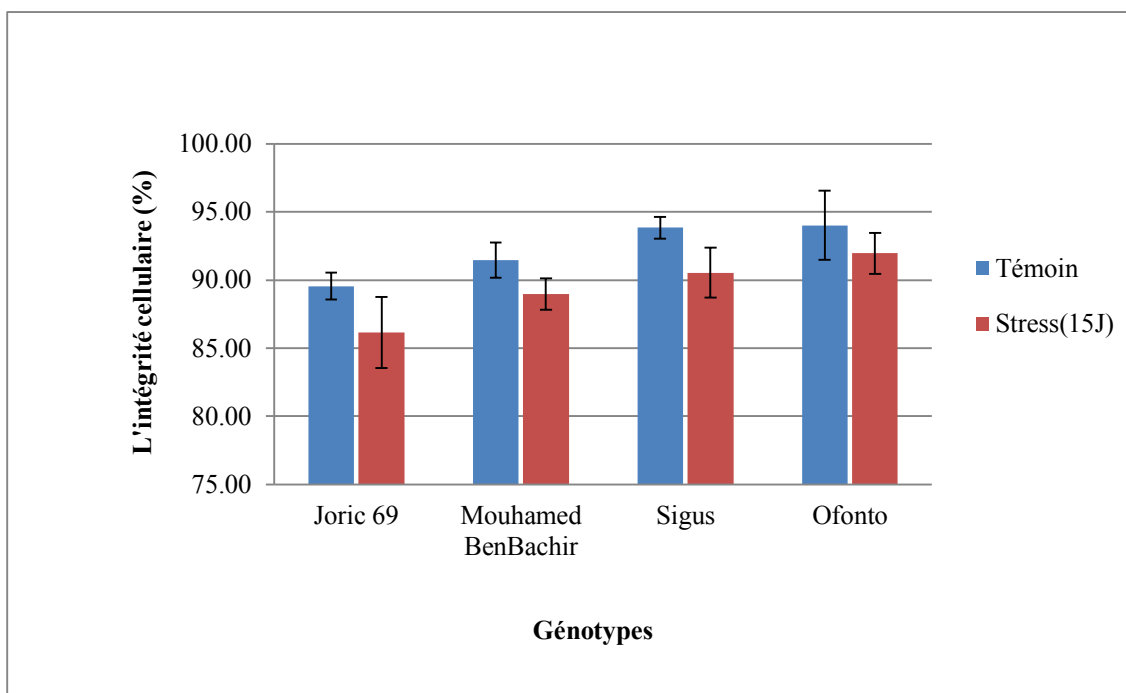


Figure 10: Variation de l'intégrité cellulaire des quatre génotypes de blé dur (Témoins ,Stressé)

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

Le test NEWMAN-KEULS au seuil 5% révèle l'existence de deux groupes homogènes, le premier (A) porte le traitement irrigué alors que le second groupe (B) porte traitement non irrigué (Tableau.14).

Tableau 14: Classement des deux traitements applique chez les quatre variétés pour la l'intégrité cellulaire

Traitements	Moyenne	Regroupements
T	10,300	A
S	14,178	B

Pour le facteur variétés, le test effectué désigne trois groupes homogènes, le groupe (A) compren les deux génotypes sigus et ofonto avec une moyenne générale de 9,316% à 10,062% le second groupe (B) correspond au génotype MBB avec une moyenne de 13,187%, suivi du dernier groupe (C) qui porte le génotype Joric69 avec une moyenne maximale de 16,392%. (tableau.15)

Tableau15: Classement des variétés sous deux traitements d'irrigation pour l'intégrité cellulaire (IC)

Variétés	Moyenne	Regroupements
Sigus	9,316	A

Ofonto	10,062	A
MouhamedBenBachir	13,187	B
Joric	16,392	C

3- Analyse de paramètre biochimique :Analyse du taux des sucres totaux :

L'évolution de la teneur en sucres chez les plantes témoins et plantes stressées se traduit par des variations comparables. Les fortes accumulations des sucres sont observées au traitement non irrigué, tandis que les plus faibles teneurs sont marquées chez les témoins non stressés.

Les deux géotypes Joric69 et MBB présentent une forte accumulation des sucres dans les deux conditions, alors les deux autres géotypes présentent une faible accumulation des sucres solubles.

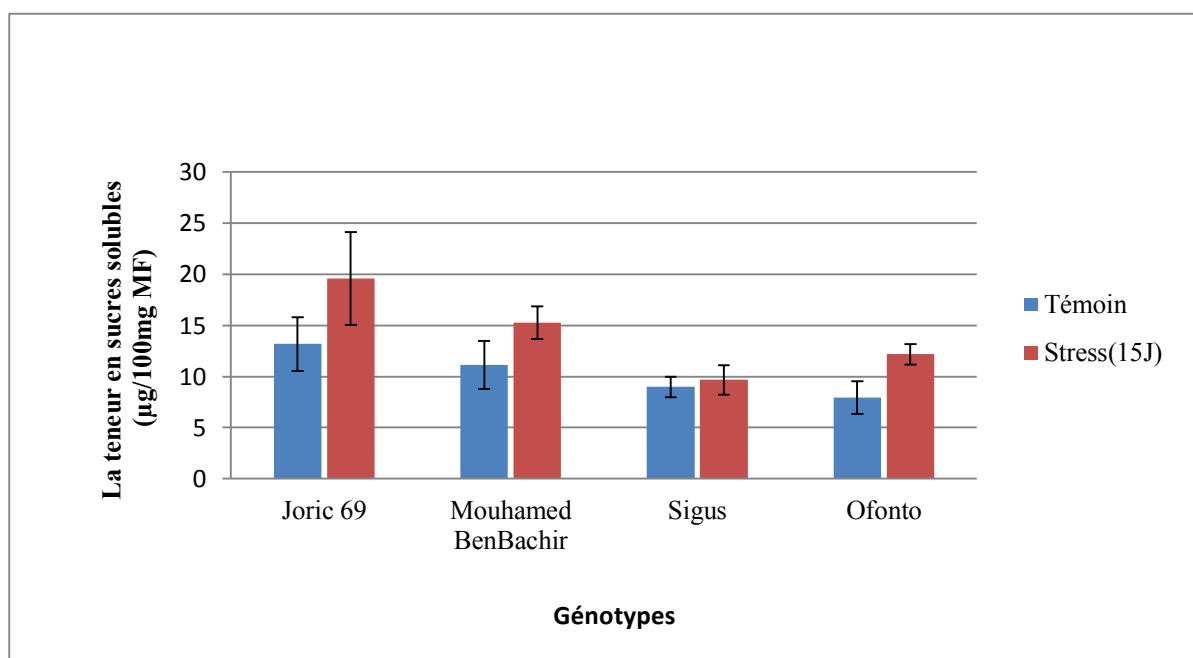


Figure 11 :variation de la teneur en sucres solubles des quatre géotypes de blé dur (Témoins,Stressé)

L'analyse de variance pour ce paramètre conduit à l'existence d'un effet variété significatif et un effet traitement très hautement significatif et non significatif pour l'interaction.

Le regroupement de traitement selon la moyenne, nous isole 2 groupes, le premier (A) Présent le traitement irrigué avec une moyenne minimale générale de 10.300 µg/100mg MF, le second groupe porte le traitement stress avec une moyenne générale maximale de 14.78 µg/100mg MF(Tableau16)

Tableau 16 : Classement des deux traitements applique chez les quatre

variétés pour la teneur en sucres solubles

Traitements	Moyenne	Regroupements
T	10,300	A
S	14,178	B

Le test NEWMAN-KEULS au seuil 5% classe le facteur variété en trois groupes A, B, et C (Tab. 19). Le groupe A contiens les génotypes Ofonto, Sigus avec une moyenne de 9.316 et 10.062 $\mu\text{g}/100\text{mg}$ MF .Alor que le groupe B qui présent le génotypeMouhamedBenBachir(S) 13.187 $\mu\text{g}/100\text{mg}$ MF.

Le groupe C présente le génotype Joric avec une moyenne maximale de 16.392 $\mu\text{g}/100\text{mg}$ MF. (Tableau. 17).

Tablea17: Classement des variétés sous deux traitements d'irrigation pour la tenure de sucre totale

Variétés	Moyenne	Regroupements
Sigus	9,316	A
Ofonto	10,062	A
MouhamedBenBachir	13,187	B
Joric	16,392	C

D'après les résultats obtenus, on constate que sous un déficit hydrique toutes les variétés réagissent par une augmentation de la teneur en sucres solubles dans les tissus foliaires, cette augmentation se maintient et s'amplifie avec l'intensité et la durée de la contrainte hydrique. Ce qui semble être un comportement de résistance au stress hydrique.

L'ajustement osmotique est reconnu comme un mécanisme effectif de tolérance au stress hydrique, plusieurs avantages lui sont conférés, le plus important étant le maintien de la pression cellulaire. Ce résultat est en conformité avec les recherches de plusieurs auteurs dont Mekliche et al.,(2003) signalent une augmentation de la teneur en sucres solubles chez six variétés de blé dur en situation de contrainte hydrique.

D'autre part, Patakas et Notaki (2001) suggèrent que l'augmentation de la concentration en sucres solubles chez la vigne et en corrélation avec la réduction de l'amidon dans les tissus foliaires en réponse à un stress hydrique. Mohammad khani (2008) signale également une forte accumulation des sucres solubles qui évolue progressivement avec la concentration du PEG chez des variétés de maïs.

D'après Luo et al.,(2009), l'accumulation des sucres joue un rôle critique dans l'ajustement osmotique des plantes. Arabzadeh (2012) avise une accumulation des sucres solubles dans les feuilles des plantes pendant la dessiccation participant à maintenir leur turgescence et empêchent la déshydratation des membranes cellulaires.

4- Paramètres moléculaire

4-1- La Quantification de l'ADN

Après l'extraction de l'ADN, on a procédé à une quantification de nos extractions par le nanodrop pour connaître les concentrations de nos échantillons et pouvoir réaliser après les dilutions nécessaires pour l'amplification par PCR.

Tableau.18 : Quantité d'ADN extrait

Sample ID	Nucleic Conc.µg/µl	Acid 260/280	260/230
Joric69	1210,7	1,94	1,53
MBB	1361,8	1,92	1,36
Sigus	1119,5	1,92	1,52
Ofonto	1054	1,87	1,4

On note que les concentrations obtenues sont largement suffisantes pour un bon déroulement d'une amplification d'ADN, puisqu'il est recommandé dans la pratique d'utiliser des concentrations d'ADN entre 5 et 10 ng/µ l. Alors que les concentrations de nos échantillons varient entre 1361,8 et 1054µg/ µ l pour MBB et ofonto respectivement.

4-2- Qualité d'extraction

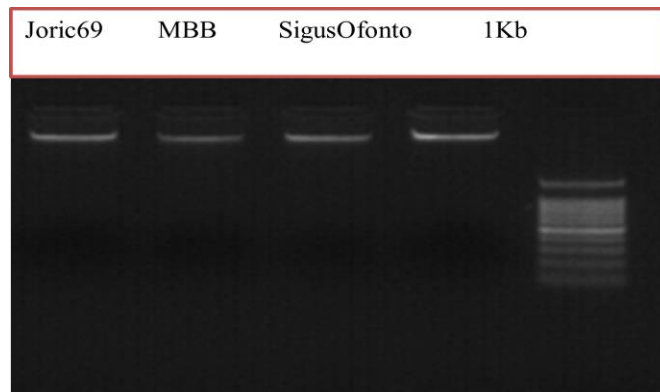


Figure 12 : Vérification de la qualité d'extraction d'ADN sur gel d'agarose à 0.8 %.

A partir de ce gel on note que la qualité d'ADN extrait est bonne et ceci est distingué par la présence d'une seule bande de taille commune chez tous les individus. Ainsi un ADN de qualité intégrale assure un bon déroulement de PCR. (Figure 12)

4-3- Résultats de l'amplification

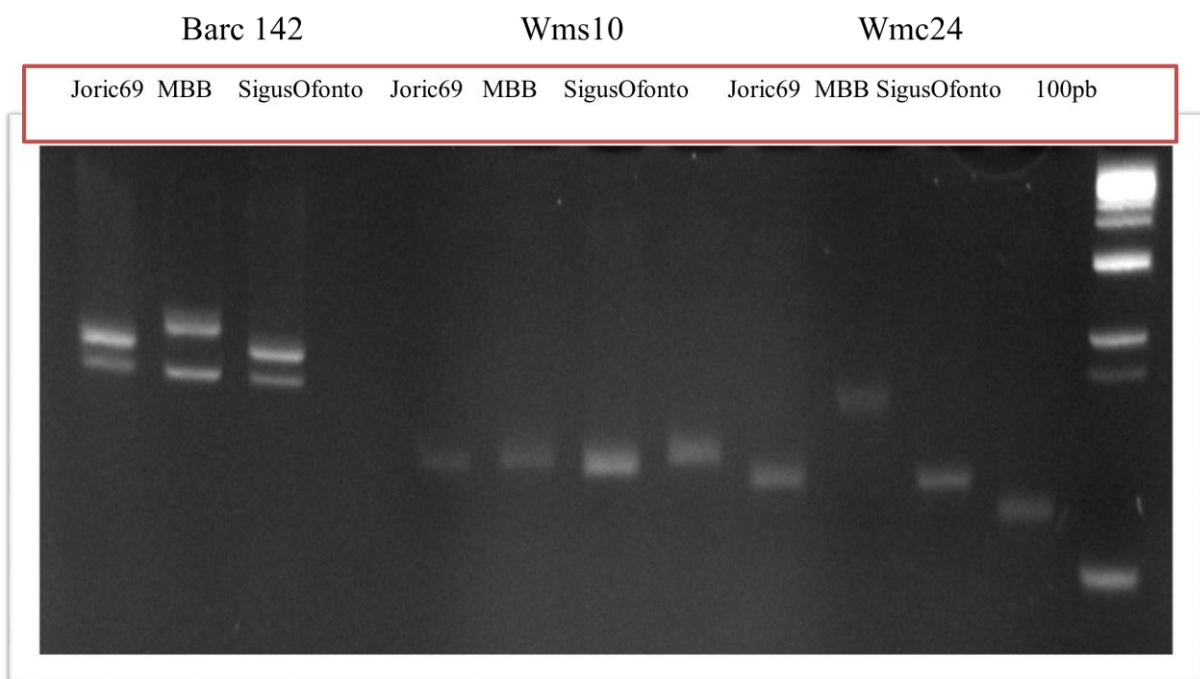


Figure 13 : Vérification de l'amplification des locus *Barc142*, *Wms10* et *Wmc24* sur gel d'agarose de 3% chez quatre géotypes de blé dur.

- **Pour le locus Barc 142 :**

Les deux variétés Joric69 et sigus présentent les même bandes d'amplifications avec les mêmes tailles, la variété MBB représente un polymorphisme unique par rapport les autres variétés. Alors que la variété ofonto n'a rien présenté.

- **Pour le locus Wms10 :**

On constate qu'il ya une amplification d'une seule bande chez tous les individus mais avec des tailles différents, ou les deux variétés Joric69 et sigus ont le même amplifiant, la même observation chez les deux autres variétés MBB et Ofonto ont le même amplifiant .

- **Pour le locus Wmc24 :**

Trois différents amplifiants ont été observés, dont un est marqué chez les deux variétés Joric et Sigus, le deuxième amplifiant est marqué que chez la variétés MBB. Alors le dernier a été noté chez la variétés ofoto.

A decorative graphic featuring a central white circle containing the word "Conclusion" in a brown, italicized serif font. Below the circle is a horizontal orange ribbon with a white border, containing the text "Chapitre I" in a black, bold, sans-serif font. The entire graphic is flanked by two clusters of golden wheat stalks and is accented with two orange ribbons that curve downwards on either side.

Conclusion

Chapitre I

Conclusion

Le stress hydrique affecte le développement et le bon fonctionnement des plantes. Par ailleurs, et pour bien se développer, la plante doit disposer des mécanismes d'adaptation qui lui permettent de supporter la sécheresse. Dans le cadre de ce travail, le comportement de quatre variétés de blé dur est analysé.

A travers les résultats obtenus dans cette étude on peut constater que l'application d'une contrainte hydrique se manifeste chez l'ensemble des variétés de blé étudiées par des traits généraux communs, il s'agit, d'une modification morpho-physiologique et biochimique en réponse au stress.

Parmi les paramètres mesurés les plus affectés, figurent la teneur relative en eau, la surface foliaire et l'intégrité cellulaire. Ces paramètres ont été analysés par une analyse statistique des différences significatives à hautement significatives entre les plantes témoins et plantes stressés.

Le stress hydrique réduit considérablement la teneur relative en eau des cellules, Mais il permet une forte accumulation des sucres solubles chez l'ensemble des variétés.

L'utilisation des marqueurs morpho-physiologique, biochimique et moléculaires (SAM) s'impose comme une nécessité première pour l'étude de la tolérance du blé dur à la sécheresse.

Au terme de ce travail on peut conclure que les trois microsattellites Barc 142, Wms10 et Wmc24 sont apparus polymorphes et nous ont permis de déceler l'existence de différence de comportement entre les quatre variétés étudiées.

On considère que l'absence d'amplification pour le loci Barc142, chez la variété ofonto. Peut s'agir donc d'une erreur de manipulation qui a empêché l'amplification de ce marqueur.

Afin de compléter nos travaux, une étude génétique approfondie sur des variétés de blé avec d'autres marqueurs moléculaires liés directement à l'un des paramètres de tolérance au stress hydrique telle la photosynthèse, le rendement en grain, nous permettrons d'établir leur carte génétique et recherché ainsi des QTL associés aux caractères de tolérance au stress hydrique pour faciliter la sélection d'individus désirables.

Ce travail de sélection variétale doit être soutenu et poursuivi sans relâche car l'amélioration génétique est essentiellement un processus dynamique.

A decorative graphic featuring a central white circle containing the text. The circle is surrounded by a wreath of golden wheat stalks. Below the circle is a wide, flowing golden ribbon with a white border and a slight shadow, giving it a three-dimensional appearance.

*Références
Bibliographiques*

Références Bibliographiques

- Anonyme (a), 2003.** Le blé. [En ligne].URL [http:// technoboulangage.com/le-ble](http://technoboulangage.com/le-ble). (Date deconsultation: 7 mars 2003)
- Anonyme, 2006.** Lesmarchés mondiaux du blé. *USDA*. http://www.agpb.com/fr/dossier/eco/marchesmondiaux_2006.pdf.(25.05.2008/11:).
- Amokrane A. Bouzerzour H. Benmahammed A. Djekoun A, 2002.** Caractérisation desvariétés locales, Syriennes et européennes de blé dur évaluées Constantine, numéro spécial.: 33 –38p.
- Araus J.L. AlegreL.Ali Dib T. Benlaribi M. et Monneveux P, 1991.** Epidermal and stomatal conductance in seedings of durum wheat landraces and varieties. In physiology Breeding of Winter Cereals for Stressed Mediterranean Environments. INRA Montpellier ed., les colloques,55: 225-231.
- Bammoune A, 1997.** Contribution à l'étude de quelques caractères morpho physiologiques, biochimiques et moléculaires chez 13 variétés de blé dur, *TriticumturgidumESPdurum*, pour l'étude de la tolérance à la sécheresse dans la région des hauts plateaux de l'ouest algérien. Thèse de Magistère Institut des sciences de la nature, université des sciences et de la technologie Houari Boumediene, 96p.
- Barrs.H,** Determination of water deficit in plant tissues. In: water deficit and plant growth. KoslowskiT.Academypress.New York .235_368p.
- Belaid D, 1996.** Aspects de la céréaliculture Algérienne. Ed. Office des publications universitaires, Ben-Aknoun (Alger), 206 p.
- Benhamou N. 2009.** La résistance chez les plantes. Principes de la stratégie défensiveet applications agronomiques. Ed. TEC et DOC. Paris. 213-218p.
- Bensari M. Calme S.J. & Viala G, 1990.** Répartition du carbone fixé par photosynthèse entre l'amidon et le saccharose dans la feuille de Soja : influence d'un déficit hydrique : Plant phisiol. Biochimie. 28:113-12p.
- Binet P, 1989.** Métabolisme et adaptation des végétaux supérieurs aux contraintes hydriques, thermique et salines – Bull.eco – T20 : 41-49p.
- Blum A, 1988.** Plant breeding for stress environments. CRC Press Inc Florida, USA;223p.
- Bousba R. Ykhlef N. Djekoun A, 2009.** Water use efficiency and flag leaf photosynthetic in response to water deficit of durum wheat (*Trticum durum Desf*).World Journal of Agricultural Sciences 5. 5. 609 -616p.
- Chennafi H. Aidaoui A.Bouzerzour H. Saci A, 2006.** Yield response of durum wheat (*Triticum durum Desf.*) cultivar Waha to deficit irrigation under semi-arid growth conditions. Asian Journal of Plant Science. 5: 854-860 pp.Conditions. *Asian Journal of Plant Sciences* 5: 854-860p.

Chorfi A, 1992. Réactions physiologiques de *HordeumvulgarL.* cvkeys au chlorure de sodium en relation avec l'excès ionique. Thèse de doctorat, Gembloux, Faculté des sciences agronomiques, 116p.

Clarke J.M. et Mc Craig T.N, 1982. Evaluation of techniques for screening for drought resistance in wheat. *CropSci.*, 22:503-506p.

Clerget Y, 2011. Biodiversité des céréales Origine et évolution. In La biodiversité des céréales et leur utilisation par l'homme. Société d'Histoire Naturelle du Pays de Montbéliard. Extrait de la vidéoconférence du Service éducatif du Muséum Cuvier de la Ville de Montbéliard « La biodiversité des céréales et leur utilisation par l'homme » publié dans le bulletin 2011 de la Société d'Histoire Naturelle du Pays de Montbéliard. 1-16p.

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

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

Déjardin A. Sokolov L.N. & Kleczkowski L.A, 1999. Sugar/osmoticum levels modulate differential abscisic acid independent expression of two stress-responsive sucrose synthesis genes in *Arabidopsis*. *Biochem J.* 344: 503 -509 p.

Dubois M., Gilles K.A. Hamilton P.A. Ruberg A. & Smith F, 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry.* 28.3:350-356p.

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

FAO. 2007. Perspective alimentaires. Analyse des marchés mondiales. <http://www.fao.org>.
<http://www.lemaghreb.dz.com/admin/folder01/une.pdf>. *Lichens African Journal of Biotechnology* Vol. 10(18), 3574-3578

FAO, 2009. Site des données statistiques de la FAO (Food and Agriculture Organisation of the United Nations): www.faostat.fao.org.

Ferryra R., Sellés G., Ruiz R.S. & Sellés I.M, 2004. Effect of water stress induced at different growth stages on grapevine cv. Chardonnay on production and wine quality. *Acta Hort.* 664: 233- 236p.

Feillet. C. Travella, S. Stein. N. 2003. Map-based isolation of the leaf rust disease resistance gene Lr10 from the hexaploid wheat (*Triticum aestivum L.*) genome. *Proc Natl Acad Sci. USA*, 100: 15253– 15258.

Feillet P. 2000. Le grain de blé composition et utilisation. 1ère édition INRA. Paris, 303p.

Frank Samouelian, Valérie Gaudin et Martine Boccara, 2009. génétique moléculaire des plantes .142-172p.

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

Folkert A. Hoekstra E. Golvina C. Buitink M, 2001. Mechanisms of plant desiccation tolerance. *TRENDS in plant science*. Vol 6. 9: 431-438 p.

Galoud J.P. Daumas F. Carrasco A. Carriere M. Canut H. et Pont-Lazica R, 1995. Biochemical and molecular events in Arabidopsis cells under osmotic treatment: INRA. Inter drought, 132p.

Gate P. Bouthier A. Casablanca H. et Deleens E. 1993. Caractères physiologiques décrivant la tolérance à la sécheresse des blés cultivés en France. Interprétation des corrélations entre le rendement et la composition isotopique du carbone des grains. In: Tolérance à la sécheresse des céréales en zone Méditerranéenne. Diversité génétique et amélioration variétale. Ed. INRA, Montpellier (France), 64:61-73p.

Gate P, 1995. Ecophysiologie du blé : De la plante à la culture. Lavoisier, Paris. 429 p.

Geigenberger P. Reimholz R. Geiger M. Merlo L. Canale V. & Stitt , 1997. Resolution of sucrose and starch metabolism in potato tubers in response to short-term water deficit. *Planta*. 201: 502-518 p.

Gnanasiri S. Premachandra A. Hurohimi S. Kounosuke F. et Shoitsu O, 1992. Osmotic adjustment and stomatal response to water deficits in Maize. *Journal of experimental Botany*, 43(256):1451-1456.

Guettouche Rk, 1990. Contribution à l'identification des caractères morpho physiologiques d'adaptation à la sécheresse chez le blé dur (*Triticum durum Desf*). Thèse diplôme d'agronomie approfondie.

Hang L. Brook SA. Li WL. Fellers JP. Trick HN. Grill B S, 2002. Map-based cloning of leaf rust resistance gene Lr21 from the large and polyploid genome of bread wheat. *Genetics* 164:655-664 p. in: Saraoui T. 2011. Etude de la variabilité morphologique de population F2 de blé dur (*T. turgidum Durum Desf.*): utilisation d'un indice de sélection. Mémoire de magister. Univ. HADJ LAKHDAR-BATNA.

Hare P.D. & Cress W.A, 1997. Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. *Plant cell and environment*. 21: 535 - 553p.

Heiser C. B, 1990. Seeds to civilization: the story of man's food. Freeman, San Francisco. 67-79p.

Hopkins W, 2003. Les relations hydriques dans la plante entière. In: Physiologie végétale. Ed. De Boeck & Larcier. Bruxelles. 44-58p.

Ibrokhim Y. Abdurakhmonov and Abdusattor Abdukarimov, 2008. Application of Association Mapping to Understanding the Genetic Diversity of Plant Germplasm Resources *International Journal of Plant Genomics* doi:10.1155/2008/574927 18p.

Jean-Pierre A. Philippe D. Bernard I. Gilles L. Bernard S. François T. Alban T, 2006 . Sécheresse et agriculture. Réduire la vulnérabilité de l'agriculture à un risque accru de manque d'eau. Expertise scientifique collective, synthèse du rapport, INRA. France. 72 p.

Korichi M , 1993 . Contribution à l'étude de l'ajustement osmotique et de la réponse protéique de blé dur au stress hydrique – DEA. Montpellier France.

Laberche J-C, 2004. La nutrition de la plante In *Biologie Végétale*. Dunod. 2e (éd). Paris: 154 -163 p.

Laurent B. Ahmed B, La germination des semences en conditions sèches. *Science et changements planétaires/Sécheresse*, 1991 Volume 2, Numéro 4 , 239-49p.

Laurent H. Sané P, 2007 . Transfert d'eau et d'énergie. In : *Bioclimatologie. Concept et application*. Ed. Quae. Paris. 246p.

Lebon E., Pellegrino A. Tardieu F. & Lecoœur J, 2004. Shoot development in grapevine is affected by the modular branching pattern of the stem and intra and inter-shoot trophic competition. *Annals of Botany*. **93** : 263 -274 p.

Lepoivre P. Jaafari S. Semal J, 1995. Implication de l'acide abscissique dans la résistance du blé à la sécheresse. Quel avenir pour l'amélioration des plantes. Ed. AUPELF-UREF. John Libbey Eurotext. Paris. P: 141-148p.

Liners F. Gaspar Th. Van Cutsem P, 1994. Acetyl- and methylesterification of pectins of friable and compact sugarbeet calli : consequences for intercellular adhesion. *Planta* 192:545-556p.

Maury P. Langlade N. Grieu P. Rengel D. Sarrafi A. Debaeke P. Vincourt P, (2011) . Ecophysiologie et génétique de la tolérance à la sécheresse chez le tournesol. *Innovations Agronomiques*. **14** : 123-138. 16p.

Mekliche A. Bouthier A. et Gate P, 1993. Analyse comparative des comportements à la sécheresse du blé dur et du blé tendre. INRA, Paris, 64:299-309p.

Monneveux P. and Nemmar M, 1986. Contribution à l'étude de la résistance à la sécheresse [org/ 010/ah864f/ah864f00.htm](http://org/010/ah864f/ah864f00.htm).

Monneveux Ph, 1991. Quelles stratégies pour l'amélioration génétique de la tolérance au déficit hydrique des céréales d'hiver ? In : AUPELF-UREF éd. *L'amélioration des plantes pour l'adaptation aux milieux arides*, John Libbey Eurotext, Paris 165-186p.

Morgan ET gordan, 1986. Morgan, j.m, gordan, a.g. 1986. water use, grain yield and osmoregulation in water . *aust j plant physiol*; 13:523-32p.

Mouellef A, 2010. Caractères physiologiques et biochimiques de tolérance du blé dur (*Triticum durum Desf.*) au stress hydrique. Mémoire de magistère. Univ Mentouri. constantine.

Nabors M, 2008 . Réponse des plantes aux hormones et aux stimuli environnementaux. In : *biologie végétal. Structure, fonctionnement, écologie et biotechnologie*. Ed. Pearson Education. France. 247p.

Nachit M. Nachit G. Keteta H. Gauch H.G. ET Zobel R.W, 1992. Use of AMMI and linear regression models to analyse genotype environment interaction in durum wheat. *Theor. Appl. Genet.*, 83:597-601p.

Nouri L, 2002. Ajustement osmotique et maintien de l'activité photosynthétique chez le blé dur (*Triticum durum Desf.*), en conditions de déficit hydrique. Thèse de magister en Biologie Végétale. 4-16p.

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

Passioura, J, 2004. Increasing crop productivity when water is scarce: From breeding to field management In: Proceedings of the 4th International Crop Science Congress "New directions for a diverse planet" Brisbane, Australia. 12 pages. www.regional.org-au/au/cs

Patakas A. Noitsakis Semiani M, 1997. Etude de l'effet du stress hydrique sur quelques Processus physiologiques et de croissance de 2 variétés de blé tendre (*Triticum aestivum L.*). *Rech. Agr.*, 23-32p. INRA.

Paul M.H. Planchton C. & Ecochard R, 1979. Etude des relations entre le développement foliaire, le cycle de développement et la productivité chez le soja. *Amélior. plants.* 29: 479 -492 p.

Radhouane L, 2011. Comportement physiologique de deux espèces de tabac au stress salin. *Revue des régions aride. Institut des régions arides-Médenine-Tunisie.* 5: 3-14p.

Rasio A. Sorrentino G. Cedola M.C. Pastore D. & Wittner G, 1987. Osmotic and elastic adjustment of durum wheat leaves under stress conditions. *Genetic Agr.* 41: 427 - 436 p.

Rawson H.M. Bagga A.K. et Bremner P.M, 1977. Aspects of adaptation by wheat barley to soil moisture deficits. *Australian J. Plant Physiol.* 4:189-401p.

Richter G, 1993. Métabolisme des végétaux. *Physiologie et biochimie.* Presse polytechniques et universitaires romandes. 5^{ème} édition, 526p.

Scofield T. Evans J. Cook M.G. et Wardlaw I.F, 1988. Factors influencing the rate and duration of grain filling in wheat. *Aust. J. Plant Physiol.* 4: 785-797p.

Slama, A. Ben Salem. M. Ben Naceur. M. Zid, E, 2005. Les céréales en Tunisie : production, effet de la sécheresse et mécanismes de résistance (*Inrat*). 16(3) : 225-229

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

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

Tardieu F. Dreyer E, 1997. Régulation des échanges gazeux par les plantes soumises

à la sécheresse. In : L'eau dans l'espace rural. Production végétale et qualité de l'eau. Ed. INRA. France. 41-59 p.

Turner N.C, 1978. Osmotic adjustment of sorghum and sunflower crops in response to deficits and its influence on the water potential at which stomata close. Aust. J. plant Physiology, 5: 597-608p.

Wang. W.X. Brak, T. Vinocur, B.Shoseyov. O. and Altman. A,2003. Abiotic resistance and chaperones: possible physiological role of SP1, a stable and stabilising protein from *Populus*. In: Vasil IK (ed), *Plant biotechnology 2000 and beyond*. Kluwer, Dordrecht.. 439-443p.

Ykhlef N, 2001. Photosynthèse, activité photochimique et tolérance au déficit hydrique chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.). Thèse de doctorat d'Etat, Université Mentouri Constantine, 146p.

Etude comparative de l'effet du stress hydrique sur le comportement de quatre géotypes de blé dur (*Triticum durum* Desf.).

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biotechnologie végétale

L'objectif de ce présent travail consiste à une analyse du comportement de quatre variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.) : (Ofonto, Mohamed benbachir, Joric69, Sigus) soumises à un stress hydrique, en effectuant une étude comparative de quelques mécanismes de tolérance.

Les résultats obtenus montrent que le stress hydrique a entraîné une réduction de la surface foliaire, une diminution de l'intégrité cellulaire et de la teneur relative en eau. De même, une augmentation de l'accumulation des sucres solubles sont également enregistrées. Le stress hydrique affecte des changements dans les différents paramètres étudiés chez l'ensemble des variétés mais à des degrés différents.

Au même temps, les résultats d'amplification des trois microsattellites (SSR) *barc142*, *Wms10* et *Wmc24* a révèle un polymorphisme important chez les quatre variétés étudiées.

Ce polymorphisme peut être exploité pour la recherche des QTL et leur utilisation dans la sélection assisté par marqueur des blés durs en condition de stress hydrique.

Mots clés : Blé dur, tolérance, stress hydrique, SSR, marqueur morpho-physiologiques et biochimique.

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

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mme YKHLEF Nadia (Prof - UFM Constantine),

Rapporteur : Melle MOUELLEF Adra (MAA - UFM Constantine),

Examineur : Mme GHIOUA-BOUCHTAB Karima (MAA - UFM Constantine).

Date de soutenance : 18/06/2016