



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



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

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

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Biologie et écologie Végétale

قسم : بيولوجيا و علم البيئة النباتية.

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie et génomique végétale

Intitulé :

Stratégies génomiques pour une meilleure tolérance au stress hydrique chez le blé dur (*Triticum durum* Desf)

Présenté et soutenu par : BENKHELLEF Imen

Le : 16/06/2016

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mme. BOUSBA Ratiba. Docteur UFM Constantine.

Rapporteur : Mme. KACEM Nadia Sandra. Maitre assistante UFM Constantine.

Examineurs : Mme. GHIOUA-BOUCHTAB Karima. Maitre assistante UFM Constantine.

Année universitaire
2015 - 2016

Remerciement

*Je remercie avant tout **ALLAH** tout puissant, de m'avoir guidé toutes les années d'étude et m'avoir donné la volonté, la patience et le courage pour terminer ce travail.*

*J'adresse l'expression de mes très vives gratitudee et respects à Mme **KACEM Nadia Sandra**, maitre assistante à l'université des frères Mentouri Constantine pour avoir accepté d'encadrer ce travail pour ses conseils utiles, et son aide ainsi que pour sa compréhension et sa gentillesse.*

Je remercie également,

*Mme **BOUSBA Ratiba**. Dr. à l'université des frères Mentouri Constantine pour avoir bien voulu présider le jury.*

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

Dédicace

Je dédie ce travail à mes chers parents, à ma sœur et mes frères.

Imen

Résumé

Le blé est une céréale importante en terme de consommation humaine dans de nombreux pays du monde. Il est cultivé principalement dans les pays du bassin Méditerranéen à climat arides et semi-arides. Dans ces zones, le stress hydrique est l'un des facteurs limitant de la productivité végétale et du rendement agricole. L'amélioration de la tolérance reste un objectif de sélection prioritaire dans ces zones. Ce travail présente une recherche bibliographique sur la mise au point des voies et outils de la génomique dans l'amélioration de la tolérance, la génomique renforce et renouvelle les concepts et les démarches de l'amélioration des plantes. L'utilisation des outils de la génomique tels que : les marqueurs moléculaires, les puces à ADN, la transgénèse, le séquençage, etc... fournissent des données utiles sur la variation de l'expression des gènes, des profils d'expression des protéines et des métabolites, en réponse à la contrainte hydrique.

Mots clé : Blé dur, stress hydrique, tolérance, génomique, amélioration, expression génique.

Abstract

Wheat is an important plant in terms of human consumption in many countries of the world. It is grown mainly in Mediterranean countries with arid and semi-arid climate. In these areas, water stress is one of the factors limiting plant productivity and crop yield. The Improved tolerance remains a priority breeding goal in these areas. This work presents a review on the development ways and tools of genomics in improving tolerance, genomics strengthens and renews concepts and approaches to plant breeding. The use of genomics tools such as molecular markers, DNA microarray, transgenesis, sequencing, etc ... provide useful data on the change in gene expression, proteins and metabolites profiles expression in response to water stress.

Key words: Durum wheat, water stress, tolerance, genomics, improvement, gene expression.

الملخص

القمح هو المحصول الأهم من حيث الاستهلاك البشري في كثير من دول العالم. فهو يزرع بصورة رئيسية في بلدان البحر الأبيض المتوسط والتي تتميز بمناخ جاف وشبه جاف. في هذه المناطق الإجهاد المائي هو أحد العوامل التي تحد من إنتاجية النبات والمحصول، لذلك يبقى أمر تحسين مقاومة هذا الإجهاد في هذه المناطق هدفاً أساسياً. هذا العمل يركز على طرق وأدوات علم الجينوم المستخدمة في تطوير وتحسين المقاومة، حيث أن علم الجينوم يعزز ويجدد المفاهيم ونهج تربية النبات. استخدام أدوات علم الجينوم مثل الواسمات الجزيئية، مصفوفة الحمض النووي، نقل الجينات، الخ... توفر بيانات مفيدة عن التغيير في التعبير الجيني، ملامح التعبير من البروتينات و الأيض رداً على الإجهاد المائي.

الكلمات المفتاحية: القمح الصلب، الإجهاد المائي، المقاومة، علم الجينوم، تحسين، التعبير الجيني.

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
01	Composition nutritionnelle moyenne du grain entier de blé (en % de la matière sèche MS) et composition en vitamines et en minéraux (en mg)	04
02	Classification de blé dur	19

Liste des figures

N	Titre	Page
01	La production mondiale de blé (en Mt)	07
02	Origine et diffusion de <i>Triticum turgidum</i>	16
03	Représentation schématique de l'histoire évolutive des espèces de <i>Triticum</i> et <i>Aegilops</i> d'après	18

Liste des abréviations

<i>Abréviation</i>	<i>Désignation</i>
ABA	l'Acide abscissique
ADN	Acide Désoxyribonucléique
ADNc	Acide Désoxyribonucléique complémentaire.
AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism.
AREB	ABA-Responsive Element Binding proteins
ARN	Acide ribonucléique
ARNm	Acide ribonucléique messenger
C°	Degré celsius
CIMMYT	International Maize and Wheat Improvement Center
CNIS	Centre National de l'Information et des Statistiques des douanes
DREB	Drought-Responsive Element Binding proteins
Em	Early methionine-labeled protein
FAO	Food and Agriculture Organization
g	Gramme
INRA	Institut National de la Recherche Agronomique
Kg	Kilogramme
kg/hab/an	Kilogramme par habitant par an
LEA	Late-Embryogenesis- Abundant
m²	Mètre carré
mm/an	Millimètre par an
mg	Milligramme
Mt	Millions de tonnes
pb	Paire de base
PCR	Polymerase Chain Reaction

q	Quintaux
QTL	Quantitatif trait locus
qx/ha	quintaux par hectare
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
SAM	Sélection Assistée par Marqueurs
SAU	Superficie Agricole Utile
SSR	Simple Sequence Repeat
t	Tonne
IWGSC	consortium international de séquençage du génome de blé

Sommaire

<i>Introduction</i>	01
----------------------------------	----

Chapitre I: La céréaliculture en Algérie et dans le monde

I-1- Intérêt alimentaire des céréales	03
I-2- Importance économique des céréales	04
I-3- Evolution des importations algérienne totales des céréales	05
I-4- Production et rendement du blé dur	06
I-4-1- La production mondiale	06
I-4-2- La production en Algérie	07

Chapitre II : Effet du stress hydrique et stratégie d'adaptation

II-1- Rôle de l'eau pour la plante	09
II-2- Le réchauffement climatique	09
II-3- Le stress hydrique	10
II- 4- Paramètres affectés par le stress hydrique	11
II-4-1 La photosynthèse	11
II-4-2-L'alimentation minérale.....	11
II-4-3-La croissance des organes reproducteurs	12
II-4-4- La croissance végétative	12
II-4-5- Le rendement et la composition du grain	12
II-5- Stratégies mises en place par les plantes face au stress hydrique.....	12
II-5-1-L'esquive ou l'échappement	13
II-5-2-L'évitement	13
II-5-3- La tolérance	14

Chapitre III : Blé dur et expression génique sous stress hydrique

III-1- Origine du blé dur	16
III-1-1- Origine géographique	16
III-1-2- Origine génétique.....	17
III-2- Position systématique du blé dur	18
III-3- Effet du stress hydrique sur la culture du blé dur.....	19

III-4-Gènes et produits induits par le stress hydrique	20
III-4-1- Protéines du groupe LEA.....	20
III-4-2- Protéines membranaires : Les aquaporines.....	21
III-4-3- Production d'osmoprotectants	22
 Chapitre IV : Apports de la génomique pour l'étude de la tolérance au stress hydrique	
IV-1- Qu'est- ce que la génomique ?.....	23
IV-2- La génomique et l'amélioration du blé	24
IV-2-1-Principaux types de marqueurs moléculaires appliqués pour l'amélioration du blé.....	24
IV-2-1-1- Marqueurs RFLP	25
IV-2-1-2- Marqueurs de type PCR	25
IV-2-1-2-1- Les microsatellites SSR.....	25
IV-2-1-2-2- La technique AFLP.....	25
IV-2-1-2-3- La technique RAPD.....	26
IV-2-2- Apport des marqueurs moléculaires à l'amélioration du blé	26
IV-2-2-1-La cartographie d'un caractère quantitatif.....	26
IV-2-3- Analyse de l'expression des gènes et de l'accumulation des protéines.....	26
IV-2-3-1- <i>Techniques fondées sur l'hybridation</i>	27
IV-2-3-1-1- <i>Les biopuces</i>	27
IV-2-3-1-2- La PCR en temps réel.....	28
IV-2-3-2- <i>Techniques fondées sur la migration électrophorétique</i>	28
IV-2-3-2-1- La protéomique	28
IV-2-4- La transgénèse	28
IV-2-5- Le séquençage.....	29
 Conclusion	 32
 Références bibliographiques	 33

Introduction

Introduction

Les céréales constituent de loin la ressource alimentaire la plus importante au monde à la fois pour la consommation humaine et pour l'alimentation du bétail, le secteur des céréales est d'une importance cruciale pour les disponibilités alimentaires mondiales.

En Algérie la production des céréales, occupe environ 80% de la superficie agricole utile (SAU) du pays, La superficie emblavée annuellement en céréales se situe entre 3 et 3,5 million d'ha. Les superficies annuellement récoltées représentent 63% des emblavures. Elle apparaît donc comme une spéculation dominante (**Djermoun, 2009**).

Parmi ces céréales le blé dur qui constitue la première ressource en alimentation humaine et la principale source de protéines, il fournit également une ressource privilégiée pour l'alimentation animale. Le blé dur prend mondialement, la cinquième place après le blé tendre, le riz, le maïs et l'orge avec une production de plus de 30 millions de tonnes.

En Algérie le blé occupe une place primordiale dans le système agricole. Les grains du blé dur servent principalement à la fabrication de semoule, matière première des pâtes alimentaires, des pains et des galettes (**Feillet, 2000**).

La production nationale est faible et ne permet de satisfaire qu'environ 35 % des besoins d'une population de plus en plus croissante (**Hervieu et al., 2006**). Le pays figure actuellement parmi les premiers importateurs mondiaux de blé dur en s'accaparant de près de 50 % du marché mondial (**CIC, 2007**), Cette faiblesse de la production de blé en Algérie était toujours liée aux effets du climat, principalement la sécheresse qui se fait ressentir de manière très importante depuis la dernière décennie.

Le stress hydrique, limitent sérieusement la croissance des plantes ainsi que la productivité végétale (**Wang et al., 2003**). En effet, Chaque année, les surfaces perdues à cause du stress hydrique varient autour de 20 millions d'ha dans le monde. En Algérie, la situation est particulièrement grave où les rendements sont faibles (moins de 10 qx/ha) (**Kara et Bellkhiri, 2011**).

Introduction

d'analyser la plante en tant que système, dans son intégralité et, en conséquence, contribuent à mieux comprendre la fonction biologique et les interactions des gènes exprimés dans certaines conditions de stress, comme le déficit hydrique. La génomique couvre l'ensemble des techniques et des méthodes permettant l'étude de la structure, du fonctionnement et de l'évolution des génomes. En outre elle fournit des renseignements précieux pouvant contribuer à la découverte de nouveaux gènes qui permettront d'accroître le rendement agricole, de comprendre la variabilité génétique (**Mardis, 2011**).

À travers cette synthèse bibliographique, nous nous intéresserons à l'importance de la céréaliculture en Algérie et le monde qui fera l'objet d'un **premier chapitre**. Dans le **deuxième chapitre** nous nous intéresserons à l'effet de stress hydrique sur la plante ainsi qu'aux différentes stratégies d'adaptations. Le **troisième chapitre** représentera la plante de blé dur et ainsi que son l'expression génique. Dans un **dernier chapitre** nous détaillerons les connaissances actuelles sur les principales voies de la génomique utilisées dans l'amélioration des plantes. Nous finirons ce travail par une **conclusion** suivie par une liste des références bibliographiques.

Chapitre I : La céréaliculture en Algérie et dans le monde

I-1- Intérêt alimentaire des céréales

Cook et al., (1991), ont estimé que deux tiers de la population mondiale dépendent du blé dur et du riz pour leur nourriture de base. Les avantages nutritionnels des céréales sont évidents : nature complexe des glucides, source protéique intéressante, apport de micronutriments indispensables, présence de fibres alimentaires végétales, etc (**Fredot, 2005 ; Leverve, 2007**). Ces constituants se répartissent de manière inégale au sein des différentes fractions histologiques du grain (**Feillet, 2000**). Une grande partie des composantes du grain ayant un intérêt nutritionnel se retrouve dans les sons. Selon **Branlard et al., (2012)**, le son et le germe sont connus pour renfermer la majorité des substances nutritionnelles ou bioactives telles que les fibres et les minéraux (notamment Fe, Mg, Se, Zn, P), des antioxydants (notamment acides phénoliques, caroténoïdes), les vitamines du groupe B et E (**Tableau 01**). La matière sèche de grain de blé est de 86 – 87 %. Le grain de blé ne constitue que 13,5 % d'eau (**Fredot, 2005**). Le blé est donc, un aliment énergétique. D'après **Feillet, (2000)**, les protéines du blé ont une teneur élevée en acide glutamique, elles sont riches en proline et leucine. L'amidon est le principal polysaccharide de réserve de grain des céréales.

Le blé dur, dans le monde entier sert à produire de la semoule dont on fait toutes sortes de pâtes (macaronis, spaghettis), des pains et des plats traditionnels. Dans le les pays du Maghreb, c'est le blé dur qui a la préférence pour la fabrication du couscous. En Algérie, il joue un rôle très important dans le régime alimentaire de la population. La galette et le couscous sont les principaux plats quotidiens confectionnés à partir de sa semoule. D'autres plats sont préparés à partir du grain de blé dur : frik, pâtes, certains produits de pâtisserie traditionnelle comme : rffis, temina, braje... (**Kezih et al., 2014**).

Tableau01 : Composition nutritionnelle moyenne du grain entier de blé (en % de la matière sèche MS) et composition en vitamines et en minéraux (en mg) (Fredot, 2005).

Composition nutritionnelle	Pourcentage de MS (%)
Protéines	12
Lipides	2
Glucides	61
Composition en vitamine	Poids (mg) pour 100g
<u>Vitamine</u>	
Vitamine E	2,5
Vitamine B1	0,41
Vitamine B2	0,1
Vitamine B3	4,7
Vitamine B6	0,5
Vitamine D	0
<u>Minéraux</u>	
Calcium	35
Cuivre	0,6
Fer	5
Magnésium	140
Sodium	3
Potassium	435
phosphore	400
Zinc	4,1

I-2- Importance économique des céréales

La céréaliculture constitue en Algérie la principale activité, notamment dans les zones arides et semi arides (Cadi, 2005). Le blé dur occupe une place centrale dans l'économie algérienne. Il couvre 1,5 million d'ha sur les 3,0 million d'ha consacrés à la céréaliculture (Mazouz, 2006). La production algérienne de blé dur est très instable d'une année à l'autre à cause des conditions climatiques très variables (irrégularités des pluies, sécheresse...etc). La productivité nationale est assez faible de 8 à 10 qx/ha, ceci se répercute sur l'offre et la demande.

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

On distingue deux types de blé importants sur le plan économique :

- Le blé tendre, cultivé principalement dans les régions de hautes latitudes, a pour débouché principale la production de farine panifiable

- Le blé dur, essentiellement cultivé dans les zones chaudes et sèches du globe, est une céréale très riche en gluten utilisée pour produire les semoules et les pâtes alimentaires.

I-3- Evolution des importations algérienne totales des céréales

L'Algérie est un grand importateur de blé et se trouve dépendante du marché international. Cette situation risque de se prolonger à plusieurs années, faute de rendements insuffisants et des besoins de consommation sans cesse croissants devant une forte évolution démographique. En effet, une production de 2.7 millions de tonnes est très insuffisante pour couvrir les besoins du marché national et alimenter les stocks stratégiques pousse l'Algérie à recourir systématiquement aux importations. L'algérien est parmi les plus grands consommateurs de blé dans le monde avec une moyenne annuelle de 231 kg/habitant/an.

Les importations de céréales évoluent selon l'importance de la production nationale. De 1995 à 2005, le marché Algérien a absorbé, en moyenne annuelle, 4244903 tonnes de blés dont 70,44% de blé dur, soit 2990265 tonnes représentant une valeur de 858 millions de dollars, dont 60,36% de blé dur, soit 578 millions (**Chehat, 2007**).

Selon les données du **CIC, (2013)**, l'Algérie à importé 545.000 t de blé dur à la fin novembre 2012 contre 527.000 t au cours de la précédente campagne, soit une hausse de plus de 3%. La cause de recul du rendement est la conséquence de la sécheresse qui a frappé les pays. En 2013, les importations des céréales avaient totalisé un montant de 3,16 milliards de dollars contre 3,18 milliards de dollars en 2012, enregistrant un léger recul de l'ordre de 0,62%.

La facture globale de l'importation des céréales a atteint un montant de 1,65 milliard de dollars durant les cinq premiers mois de 2015. En volume le blé a connu une hausse sensible en volume et valeur. Pour le blé dur, la facture a atteint 435,98 millions de dollars pour 886.764 tonnes importées, contre 281,98 millions de dollars pour 723.935 tonnes à la même période en 2014, selon les statistiques du Centre national de l'information et des statistiques des douanes (CNIS). Quant au blé tendre, la facture des

importations s'est établie à près de 720,15 millions de dollars pour 2,77 millions de tonnes, contre 693,12 millions de dollars pour 2,29 millions de tonnes à la même période en 2014 (Zitouni, 2015).

I-4- Production et rendement du blé dur

I-4-1- La production mondiale:

Le blé représente près de 30% de la production céréalière mondiale en volume, derrière le maïs (38%) et le riz décortiqué (20%). C'est aussi la céréale la plus échangée, les exportations représentant 20% de la production totale de blé (12% pour le maïs et 7% pour le riz), ce qui lui confère une importance géostratégique majeure (Anonyme, 2012).

La production du blé dans le monde est de 650 million de tonnes en 2010 (Branlard et al., 2012). D'après Feillet, (2000), les estimations de la demande mondiale de blé dur s'élèvera à 1 milliard de tonnes en 2020. La culture de blé représente 17% des échanges internationaux de produits agricoles. Seconde en volume après le maïs, la production de blé ne cesse de croître pour faire face à la demande de sa consommation. Les surfaces cultivées en blé (220 million d'ha) ne peuvent croître indéfiniment d'autant que les conditions agro climatiques et de culture (zone semi-aride, salinité des sols) voire l'extension des zones urbains sont de réelles limites à sa progression (Branlard et al., 2012).

Selon les premières prévisions de la FAO, la production de blé de 2016 s'établirait à 723 millions de tonnes, soit une baisse de 1,4 % (10 millions de tonnes) par rapport au volume record rentré en 2015. Cette diminution s'expliquerait principalement par le recul des semis d'hiver en Fédération de Russie et en Ukraine, dû pour l'essentiel au temps sec, tandis que des résultats en baisse sont aussi attendus dans l'Union européenne, où les rendements devraient redevenir normaux après les niveaux record enregistrés en 2015. Aux États-Unis d'Amérique, les prévisions préliminaires établissent la récolte de 2016 juste au dessous de celle de 2015, l'amélioration des rendements devant compenser la réduction des semis d'hiver (FAO, 2016) (Figure 01).

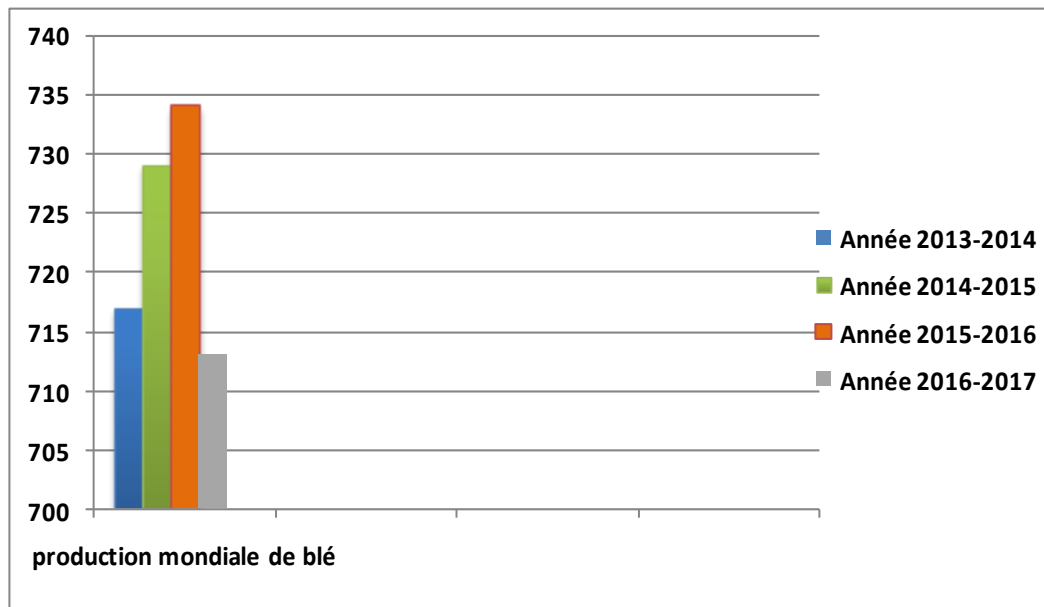


Figure 01 : la production mondiale de blé (en Mt) (FAO, 2016).

I-4-2-La production en Algérie :

La production des céréales, occupe environ 80% de la superficie agricole utile (SAU) du pays, La superficie emblavée annuellement en céréales se situe entre 3 et 3,5 million d’hectare. Les superficies annuellement récoltées représentent 63% des emblavures (**Djarmoun, 2009**). La production moyenne de céréales des 5 dernières années (2008 à 2012), qui a légèrement dépassé 32 millions de quintaux selon la Fao, se répartit comme suit : 19 millions de q (60%) pour le blé et 13 millions de q (40%) pour l’orge.

La production de blé se répartit entre blé dur (70% en 2012) et blé tendre (30%), avec une importante variabilité interannuelle. Le blé dur reste ainsi la céréale prépondérante en Algérie. Généralement bien adapté aux conditions locales, sa production progresse au même rythme que celle du blé tendre (+ 47% entre les moyennes quinquennales 2000-2004 et 2008-2012), contre 84% pour l’orge, qui reste plus importante que le blé tendre, à plus de 13 millions de quintaux en 2008-2012, contre 8 pour le blé tendre et 19 pour le blé dur (**Rastoin et Benabderrazik, 2014**).

Chapitre I : La céréaliculture en Algérie et dans le monde

L'Algérie a produit 40 millions de quintaux de céréales durant la campagne moissons-battages 2014-2015, contre 35 millions lors de la saison précédente, soit une hausse de 14,3% (**Tadjer, 2015**).

Chapitre II : Effet du stress hydrique et stratégie d'adaptation

II-1-Rôle de l'eau pour la plante

L'eau constitue l'élément le plus vital pour la plante étant donné qu'il constitue la phase liquide dans laquelle tous les processus biochimiques de la plante ont lieu. Par conséquent, la disponibilité de l'eau en quantité suffisante dans le sol est primordiale (Escolana et al., 2000).

La richesse en eau des plantes est variable selon les espèces, les organes et les milieux de vie. En effet, une salade peut contenir 90 à 93% d'eau, une feuille est composée souvent de 80 à 90% d'eau et le bois fraîchement coupé peut renfermer 30 à 50 % d'eau. Il faut 1 500 litres d'eau pour obtenir 1 Kg de blé, 500 litres d'eau pour 1 Kg de maïs et 4 500 litres d'eau pour 1 Kg de riz.

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

II-2- Réchauffement climatique

Durant les trente dernières années, un changement climatique a été constaté au niveau planétaire. Ce changement s'est traduit par une augmentation de la température moyenne, une plus forte variabilité de la pluviométrie et l'augmentation de l'occurrence de conditions extrêmes telles que les inondations, les sécheresses, les cyclones, les tsunamis, etc (GIEC, 2007).

À l'échelle globale, les statistiques montrent qu'au cours du 20^{ème} siècle, la terre s'est réchauffée de 0,76°C. Les données météorologiques concernant l'Afrique du Nord indiquent que le réchauffement climatique est plus accentué dans cette région en comparaison avec la moyenne mondiale. En effet, la hausse des températures au 20^{ème} siècle concernant l'Afrique du Nord s'est située entre 1,5 et 2°C selon les régions, et la baisse des précipitations est estimée entre 10 et 20% (Philippe, 2007). Ceci montre que

les pays de l'Afrique du Nord subiront, plus que d'autres régions, les impacts du changement climatique (**Aoul, 2007**). L'Afrique devrait voir les deux tiers de ses terres arables disparaître d'ici 2025 en raison de la sécheresse.

A cause du réchauffement climatique trois des quatre principales cultures agricoles (blé, riz et maïs) du monde seraient ainsi menacées. La production mondiale de blé subirait un déficit de 14%, par rapport à la demande d'ici à dix ans. Un déficit qui s'établirait à 11% pour le riz et 9% pour le maïs (**Foucand, 2011**).

II-3- Le stress hydrique

Les stress environnementaux, notamment le stress hydrique, limitent sérieusement la croissance des plantes ainsi que la productivité végétale (**Wang et al., 2003**). Le stress hydrique a été défini comme une baisse de la disponibilité de l'eau, traduisant par une réduction de la croissance de la plante et/ou de sa production par rapport au potentiel du génotype.

La contrainte hydrique est le facteur ou l'ensemble de facteurs ayant pour conséquence le stress. D'autres auteurs limitent la définition du stress aux seules conditions correspondant à une hydratation sub-optimale des tissus. Le stress hydrique provoqué par un déficit en eau constituant un menace permanent pour la survie des plantes, néanmoins, beaucoup d'entre elles produisent des modifications morphologiques et physiologiques qui leurs permettent de survivre dans les régions de faible pluviosité et dont la teneur en eau des sols est peu élevée (**Hopkins, 2003**).

Le déficit hydrique est une contrainte abiotique majeure de la production agricole. Tout d'abord par son impact négatif sur le rendement de culture et la qualité des produits, et par sa fréquence. On estime qu'environ 40% des surfaces cultivées dans le monde sont soumises à la sécheresse. Cause principale du stress hydrique, la sécheresse est, au sens climatique, une période pendant laquelle les précipitations sont très inférieures à la normale, c'est une période durant laquelle les débits sont très inférieurs à la moyenne.

II-4- Paramètres affectés par le stress hydrique :

Les végétaux sont caractérisés par une grande capacité à résister aux variations importantes de la teneur en eau de leurs tissus. Néanmoins lorsque l'alimentation en eau est interrompue, la plante a du mal à répondre à la demande climatique. La teneur en eau du sol dans la zone racinaire décroît et induit une diminution de la transpiration ainsi que du potentiel hydrique foliaire. Les paramètres affectés par le stress hydrique au niveau de la plante sont: la photosynthèse, l'alimentation minérale, la croissance végétative, etc.

II-4-1- La photosynthèse

Parmi les modifications physiologiques liées au stress hydrique, la régulation stomatique qui influe sur la photosynthèse et la respiration, est la plus importante. Plusieurs travaux permettent de voir comment les organes végétaux sont affectés par la sécheresse. La baisse du potentiel hydrique de la plante se traduit principalement par une diminution de la pression de turgescence puis une régulation stomatique. Donc un stress hydrique, en provoquant la fermeture des stomates se traduit par un ralentissement de la photosynthèse en même temps que la transpiration (**Teulat et al., 1997**). La sécheresse menace la capacité de la plante à maintenir sa photosynthèse (**Escalona et al., 2012**).

II-4-2- L'alimentation minérale

Le déficit hydrique induit un déficit de nutrition azotée qui provient principalement des réductions de flux d'azote au niveau des racines et de la réduction des échanges entre les parties aériennes et racinaires du fait de la chute de la transpiration (**Dugo, 2002**). Le facteur d'aridité peut affecter la nutrition phosphatée dans les zones semi-arides en réduisant de manière drastique les possibilités de désorption des ions phosphate depuis la phase solide du sol et de leur transfert vers la racine. En effet 95% du phosphore prélevé doit être désorbé avant d'être transféré vers la plante.

II-4-3- La croissance des organes reproducteurs

De la même manière que pour les organes végétatifs, la croissance des jeunes organes reproducteurs (ovules, fleurs puis graines) ainsi que leur nombre (défini par des processus de ramification) sont limités en cas de déficit hydrique. Il en résulte une réduction du nombre de grains, qui aura un effet sur le rendement même si les conditions hydriques redeviennent favorables.

II-4-4- La croissance végétative

Le développement végétatif d'une plante cultivée sous conditions hydriques limitantes est fortement perturbé (**Chaves et al., 2002**). On note principalement une diminution importante de la taille, de la longueur des entre nœuds, du nombre de feuilles voire de la surface foliaire (**Attia, 2007**). Les plantes soumises à un déficit hydrique voient généralement leur sénescence foliaire s'accélérer; et une perte trop importante d'eau peut conduire à la mort des cellules (**Bouchabke et al., 2006**).

II-4-5- Le rendement et la composition du grain

Selon le positionnement dans le cycle de développement et l'intensité de la contrainte hydrique, les stress hydriques influencent les rendements ainsi que la composition biochimique des graines. Un déficit hydrique après la fécondation réduit la taille des organes et si elle se poursuit pendant la phase de remplissage, elle affecte leur composition. Les différents métabolismes étant inégalement affectés par le déficit hydrique (le métabolisme carboné l'est davantage que le métabolisme azoté), les concentrations relatives des différents composés sont modifiées : un manque d'eau induit généralement une baisse des teneurs en amidon et en huile des graines, et une augmentation des teneurs en protéines (**Hireche, 2006**).

II-5- Stratégies mises en place par les plantes face au stress hydrique

Les végétaux sont caractérisés par une grande capacité à résister aux variations importantes de la teneur en eau de leurs tissus. Néanmoins lorsque l'alimentation en eau est interrompue, la plante a du mal à répondre à la demande climatique. La résistance globale d'une plante au déficit hydrique apparaît comme le résultat de nombreuses modifications. Toutes les plantes développent, à des degrés divers, des mécanismes de résistance au stress hydrique. Mais, **Josis et al., (1983)** estiment que la fermeture des

stomates est le principal sinon le seul moyen dont dispose la plante pour réguler son déficit hydrique interne, par conséquent, résister à la sécheresse. Toutefois, **Levitt et al.,**

(1960) de même que **Turner** en 1979 s'accordent à distinguer globalement trois mécanismes de résistance chez les espèces cultivées : l'évitement, l'esquive et la tolérance.

II-5-1- L'esquive ou l'échappement

L'esquive consiste en un ensemble d'astuces dont se sert la plante pour conserver le potentiel hydrique de ses tissus à un niveau assez élevé durant les périodes de déficit hydrique afin d'éviter leur déshydratation.

La plante réalisera son cycle pendant la période favorable en réduisant voire en annulant les effets du stress hydrique qui se produit au cours d'une phase sensible ou critique.

La précocité chez les céréales en zones méditerranéennes est un mécanisme largement exploité par les agriculteurs. Mais il n'est pas sans présenter des inconvénients (**Blum, 1988**).

De nombreux travaux ont montrés l'existence d'une corrélation positive entre la longueur du cycle et le rendement potentiel. L'adoption d'une telle stratégie par l'utilisation de variétés précoces entraîne le sacrifice d'une part de productivité.

L'exploitation de l'esquive comme stratégie d'adaptation aux stress s'est faite dans le contexte agricole en cherchant à faire coïncider le développement de la culture ou du moins les phases les plus sensibles avec les périodes où le stress est moins intense. Ceci s'est fait par des études de l'influence de la variabilité de la durée des phases de développement sur la productivité de la plante, dans le but de déduire la durée la plus optimale pour que les stades sensibles puissent se réaliser à des périodes où les risques de stress sont moins pénalisants (**Witcombe et al., 2009**).

II-5-2- L'évitement

Consiste en un certain nombre de mécanismes permettant à la plante d'effectuer son cycle complet de développement en dehors des périodes de déficit hydrique important.

La stratégie d'évitement permet à la plante de traverser des périodes de sécheresse en privilégiant la limitation de la perte en eau, ce qui restreint la chute de potentiel

hydrique des tissus. Les pertes d'eau peuvent être minimisées à court terme par le contrôle de la transpiration par la régulation stomatique et, à plus long terme, par la diminution du rayonnement absorbé grâce à l'enroulement des feuilles, au

développement d'une couche dense de trichomes ou à la modification de l'angle des feuilles (**Larcher, 2000**). Elle résulte aussi à plus long terme de la réduction de la surface foliaire et de l'arrêt de croissance (**Chaves et al., 2003**). De plus, l'absorption d'eau est maximisée en favorisant l'allocation de ressources au profit de la prospection racinaire qui se traduit par un accroissement du root/shoot ratio. Cette stratégie « économe en eau », bien que favorable au maintien du statut hydrique du végétal, est pénalisante pour le gain de carbone (**McDowell et al., 2008**).

II-4-3- La tolérance

Procédés utilisés par la plante pour maintenir l'intégrité de ses fonctions métaboliques tout en endurant un déficit hydrique dans les tissus. Ces procédés consistent principalement au maintien de la turgescence et en la tolérance à la déshydratation (dessiccation).

Le maintien de la turgescence se fait par :

- l'accumulation de solutés (potassium, calcium, magnésium etc.) particuliers pendant les périodes sèches, permettant à la plante de maintenir la turgescence en contrainte hydrique : c'est l'ajustement osmotique qui permet de limiter la réduction de la pression de turgescence des cellules quand le potentiel hydrique baisse.
- l'augmentation de l'élasticité membranaire et la réduction de la taille des cellules, ce qui implique un maintien permanent de la pression de turgescence ainsi que la résistance protoplasmique ; le maintien de la turgescence permet également de garder les stomates ouverts, d'optimiser la photosynthèse, la croissance racinaire, donc, l'absorption hydrique ; elle diffère l'enroulement des feuilles et leur sénescence lors du déficit hydrique.

La tolérance à la déshydratation qui dépend de la capacité des membranes cellulaires, des protéines membranaires et cytoplasmiques à résister à la dénaturation. Enfin, selon **Denden et al., (2005)**, la réponse immédiate au stress hydrique est le ralentissement de la transpiration. En cas de déficit hydrique, les racines synthétisent l'acide abscissique qui est véhiculé par la sève jusqu'aux feuilles où il déclenche alors la fermeture de stomates. L'état hydrique des feuilles participe également à la régulation

de l'ouverture de leurs stomates. Toutes les espèces végétales n'utilisent pas ces mécanismes de la même façon. Certaines comme le maïs (*Zea mays*) et le pois contrôlent fortement l'état hydrique de leurs feuilles qui est ainsi maintenu dans une gamme de variation étroite, quel que soit l'état hydrique du sol. D'autres comme le blé

Chapitre II : Effet du stress hydrique et stratégie d'adaptation

(*Triticum L.*) autorisent des variations de l'état hydrique de leurs feuilles beaucoup plus importantes.

Des études ont montré que la production d'acide abscissique et ses effets sur les stomates sont identiques chez les lignées tolérantes et/ou sensibles à la sécheresse. Par contre, les lignées tolérantes ont une croissance des feuilles plus lente et donc une transpiration plus faible. L'adaptation des plantes à la sécheresse repose donc largement sur leur capacité à adapter leur architecture pour éviter la sécheresse (via la croissance des feuilles) et pas seulement sur leur réaction immédiate en cas de stress.

Les stratégies décrites ci-dessus ne sont pas exclusives et dans la pratique, les plantes combinent toute une gamme de réponses pour faire face à la diminution des ressources en eau (**Chaves et al., 2003**). De plus, selon les scénarii de contrainte hydrique rencontrés, les stratégies de la plante peuvent avoir des effets positifs, négatifs ou rester sans effet sur le rendement.

Chapitre III : Blé dur et expression génique sous stress hydrique

III-1- Origine du blé dur

III-1-1- Origine géographique

Le blé est parmi les premières espèces cueillies et cultivées par l'homme au proche Orient, il y a environ 10.000 à 15.000 ans avant J.C. La plupart des recherches archéologiques ont confirmé que les origines du blé se situent dans les zones du Croissant fertile (Boulal *et al.*, 2007) et (Bonjean, 2001), plus précisément au sud de l'Anatolie et au nord de la Syrie. C'est à partir de cette zone que les blés ont été diffusés vers l'Afrique, l'Asie et l'Europe. La route la plus ancienne de diffusion des céréales vers les pays du Maghreb fut à partir de la péninsule italienne et de la Sicile (Bonjean, 2001). Bonjean et Picard, (1990), affirment que le monde Romain a largement contribué à la diffusion des céréales du bassin méditerranéen vers l'Europe centrale et l'Europe de l'Ouest (Figure 02).

Le blé dur est représenté en Afrique du Nord par un très grand nombre de variétés et de sortes, qui ont fait considérer cette région comme un centre d'origine de l'espèce. Toutefois, cette opinion a été combattue par Vavilov, pour qui ce centre serait l'Abyssinie et l'Afrique du Nord est le centre secondaire de diversité de *T. durum*, surtout dans les parties montagneuses, où ces formes sont les plus variées et les plus nombreuses (Miège, 1950).

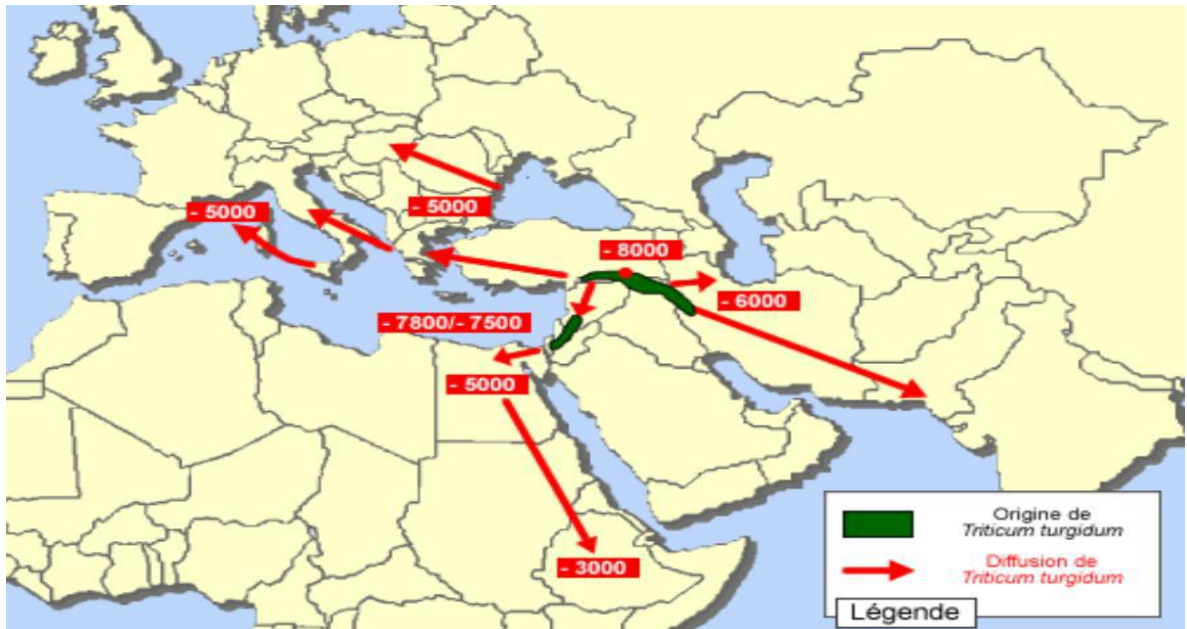


Figure 02 : Origine et diffusion de *Triticum turgidum* (Bonjean, 2001).

III-1-2- Origine génétique

Le blé appartient à la famille des graminées (*Gramineae = Poaceae*), qui comprend plus de 10000 espèces différentes. Plusieurs espèces de ploïdie différentes sont regroupées dans le genre *Triticum* qui est un exemple classique d'allo polyplôidie, dont les génomes homéologues dérivent de l'hybridation inter espèces appartenant à la même famille (**Levy et Feldman, 2002**).

Le blé dur (*T. turgidum ssp. Durum* Desf.) est une espèce allo tétraploïde ($2n = 28$, AABB) qui a pour origine l'hybridation suivie par un doublement chromosomique entre *Triticum Urartu* (génome AA) et une espèce voisine d'*Aegilops speltoides* (génome BB) (**Huang et al., 2002**).

Sakamura, (1918) cité par **Cauderon, (1979)**, fut le premier à déterminer le nombre exact des chromosomes de diverses espèces de *Triticum* et leurs différents niveaux de ploïdie:

- *Triticum aestivum*: 42 chromosomes hexaploïdes.
- *Triticum turgidum*: 28 chromosomes tétraploïdes ($2n=4x=28$) génome AABB.
- *Triticum monococcum*: 14 chromosomes diploïdes (**Cauderon, 1979**).

Feldman, (1976), affirme que le blé tire son origine d'une forme sauvage de l'espèce diploïde (*Triticum monococcum*) *sensu lato* dans une région délimitée par l'Iran, la Syrie et la Turquie.

La première espèce tétraploïde, le *Triticum turgidum* est le résultat d'une hybridation entre le *Triticum monococcum* et une herbe apparentée au blé nommée *Aegilops speltoides* (Graminée). La première espèce a fourni le génome A et la seconde, le génome B, la domestication de ce blé tétraploïde (AABB) a donné l'amidonnier, qui est à l'origine des cultivars de blé dur. Chaque génome A, B et D provient d'une espèce diploïde ancestrale différente. Ces trois espèces seraient elles-mêmes issues d'un ancêtre diploïde commun.

Cette origine lui a sans doute conféré cette souplesse d'adaptation d'où sa culture dans de très nombreuses régions dans le monde (**Piccard, 1988**). Les génomes A et B contrôlent de manière générale l'architecture, la résistance et la fertilité de l'espèce,

aussi le génome D confère au blé tendre son aptitude à la technologie du pain (**Figure 03**).

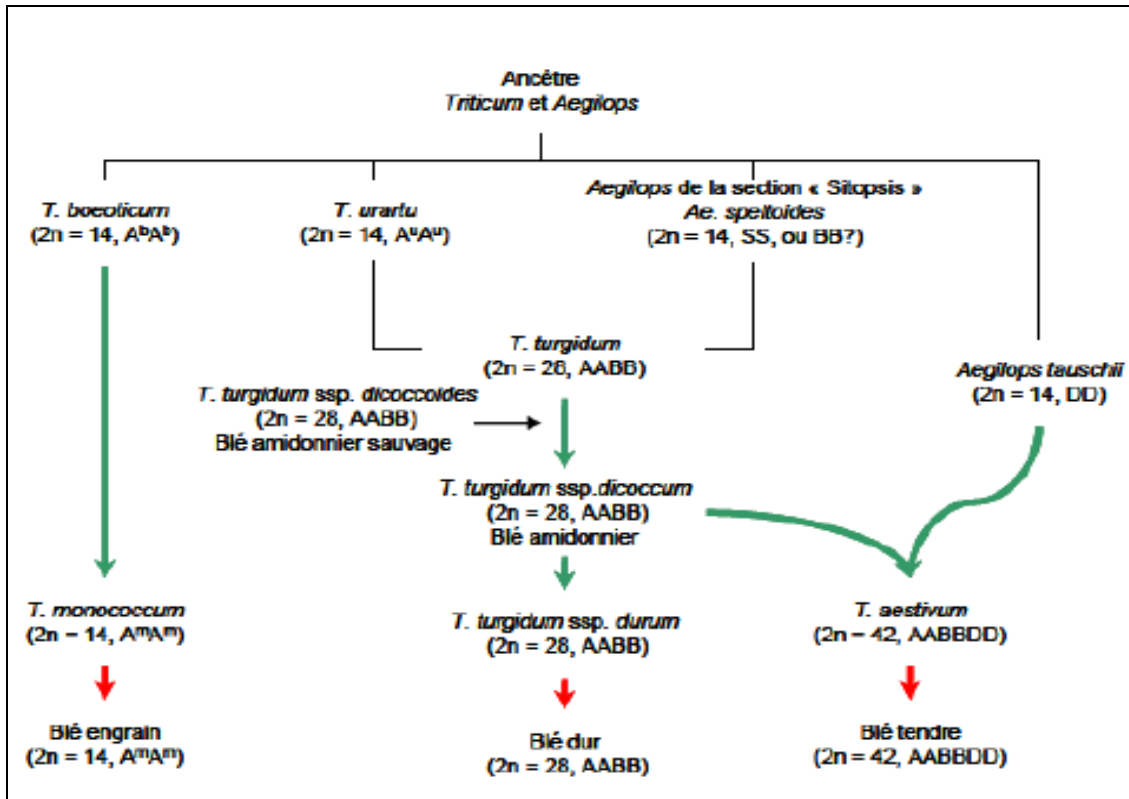


Figure 03: Représentation schématique de l'histoire évolutive des espèces de *Triticum* et *Aegilops* d'après **Feillet et al., (2008)**

III-2- Position systématique du blé dur

Le blé dur est une plante herbacée, monocotylédone appelé aussi céréale à paille appartient à la famille des Graminées, genre *Triticum*. Cette famille comprend 600 genres et plus de 5000 espèces. Une classification détaillée est donnée ci- dessous (**Tableau 02**) (**Feillet, 2000**).

Tableau 02 : Classification de blé dur (Feillet, 2000).

Embranchement	Angiospermes
Sous embranchement	Spermaphytes
Classe	Monocotylédones
Ordre	Glumiflorales
Super ordre	Comméliniflorales
Famille	<i>Poaceae</i>
Tribu	<i>Triticeae</i>
Sous tribu	<i>Triticinae</i>
Genre	<i>Triticum</i>
Espèce	<i>Triticum durum</i> Desf

III-3- Effet du stress hydrique sur la culture de blé dur

Le manque d'eau ou déficit hydrique représente le stress abiotique le plus sévère auquel la culture du blé dur fait face dans les conditions de productions des zones arides et semi- arides (Chenaffi et al., 2006). Ce stress se traduit par une série de modification qui touchent les caractères morphologiques, physiologiques et biochimiques, à partir du moment où les besoins en eau de la plante sont supérieurs aux quantités disponibles (Mefti et al., 2000). Ceci se répercute sur le rendement économique de la culture, qui peut baisser de plus de 80% (Chenaffi et al., 2006). En effet, le déficit hydrique au stage montaison se traduit par la chute du nombre d'épis produits par m², suite à la régression intense des talles et la baisse du nombre de grains par épi. Le manque d'eau

après la floraison, combiné à des températures élevées, entraîne une diminution du poids de 1000 grains par altération de la vitesse de remplissage des grains et de la durée de remplissage (**Abbassenne et al., 1998 ; Bouthiba et al., 2010**). Au cours du remplissage des grains, le manque d'eau a pour conséquence une réduction de poids de 1000 grains.

III-4- Gènes et produits induits par le stress hydrique

III-4-1- Protéines du type LEA (Late-Embryogenesis- Abundant proteins)

Les LEA sont des protéines en majorité très hydrophiles qui semblent impliquées dans la protection des structures cellulaires, ce qui en fait des protéines potentiellement très importantes dans la vie des cellules. Elles sont très nombreuses et diverses et forment un très vaste ensemble de familles de protéines.

Une des premières caractéristiques de ces protéines est qu'elles sont ubiquitaires : on les retrouve dans de nombreux compartiments cellulaires comme le noyau, le cytoplasme, le reticulum endoplasmique et elles ont été récemment découvertes au niveau de la mitochondrie.

Les protéines LEA sont majoritairement composées d'acides aminés hydrophiles ordonnés en séquences répétées. Sur la base des similarités de séquences, les protéines LEA ont été divisées en cinq groupes (**Dure et al., 1989**), (**Wise, 2003**). Les protéines du groupe 1 auquel appartiennent les protéines Em (early methionine-labeled protein), possèdent le motif «Small Hydrophilic Plant Seed Protein » (**Wise, 2003**). Les protéines du groupe 2 correspondent aux déhydrines (dehydration-induced proteins) et possèdent les motifs Y, S, K (**Campbell et Close, 1997**). Les protéines du groupe 3 possèdent des motifs répétés de 11 acides aminés qui forment des structures en hélices amphypathiques (**Hong et al., 2005**). Les protéines des groupes 4 et 5 formeraient également des hélices dans leurs parties N terminales.

De nombreux travaux mettant en évidence une corrélation positive entre l'expression de gènes de protéines LEA et l'adaptation à la déshydratation ont été rapportés (**Close, 1996**). De plus, le rôle protecteur des LEA chez les plantes soumises au stress hydrique a été clairement montré par la sur-expression de la protéine HVA1 chez le riz (**Xu et al., 1996**).

Les protéines LEA constituent un groupe important de protéines qui s'accumulent typiquement pendant les dernières étapes de l'embryogenèse, ce qui confère leur nom,

mais plus généralement en réponse à la déshydratation cellulaire induite par différents stress (**Ramanjulu et Bartels, 2002**). Ces protéines induites par l'ABA pourraient jouer un rôle en protégeant les structures cytoplasmiques lors de la déshydratation (**Ramanjulu et Bartels, 2002**).

Ces protéines LEA sont retrouvées chez de nombreuses plantules, principalement chez les cultures annuelles tels que les céréales.

a-Les déhydrines

Les déhydrines sont une famille immunologiquement distincte de protéines, également connue sous le nom de LEA D11, un sous groupe des protéines LEA (**Dure et al., 1989**), et ont été décrites dans de nombreuses espèces d'angiospermes et de gymnospermes.

Selon **Close, (1997)** parmi les protéines LEA, les déhydrines sont les plus largement étudiées et plusieurs fonctions putatives en réponse à un stress hydrique ont été proposées, telles que la stabilisation des structures membranaires de la cellule, ou la régulation du potentiel osmotique cellulaire.

D'après **Latini et al., (2006)** le gène TdDRF1 de la déhydrine du blé est impliqué dans un stress hydrique. Un ADNc de déhydrine, HaDhn1, induit par le stress hydrique, a été isolé et séquencé chez le tournesol (**Ouvrard et al., 1996**), et l'accumulation de ces transcrits a été corrélée avec la tolérance à la sécheresse et (**Cellier et al., 1998**).

III-4- 2- Protéines membranaires : Les aquaporines

Les aquaporines forment des canaux spécifiques, situés sur les membranes plasmiques ou vacuolaires, permettant le transport de l'eau et/ou de petits solutés neutres (urée, acide borique) ou de gaz (ammonium, dioxyde de carbone). Elles facilitent ainsi l'équilibre osmotique en permettant une diffusion de l'eau. Elles permettent également une régulation du transport de l'eau entre différents types de cellules et organes afin d'optimiser son utilisation pendant le stress (**Maurel et Chrispeels, 2001**).

Ces protéines membranaires peuvent réguler la conductivité hydraulique et augmenter de 10 à 20 fois la perméabilité à l'eau des membranes (**Maurel et Chrispeels, 2001**). **Smart et al., (2001)** ont montré que la répression de gènes codant pour des aquaporines est associée à une diminution de la perméabilité à l'eau des membranes et contribuerait à la conservation cellulaire de l'eau pendant des périodes de contrainte hydrique. En revanche, d'autres travaux indiquent que des gènes codant pour des aquaporines sont exprimés pendant le stress hydrique et contribuent à une augmentation du flux de l'eau (**Yamaguchi-Shinozaki et al., 1992 ; Yamada et al., 1997**).

III-4-3- Production d'osmoprotectants

L'accumulation de solutés ou d'osmolytes aide à maintenir un équilibre osmotique au niveau cellulaire dans des conditions de déshydratation (**Bray et al., 2000**). Il peut s'agir d'acides aminés, tels que la proline, la glycine bêtaïne, de sucres, tels que le saccharose et le trehalose, ou de polyols.

Des gènes impliqués dans la biosynthèse des osmolytes ont été clonés, notamment ceux contrôlant la biosynthèse de la proline (**Wood et al., 1996**).

*Chapitre IV : Apports de la génomique pour l'étude de la
tolérance au stress hydrique*

IV-1- Qu'est-ce que la génomique ?

La génomique est une branche de la biologie qui porte sur l'étude du génome, support moléculaire des caractères héréditaires des êtres vivants. La génomique apporte des outils nouveaux pour étudier la biodiversité des plantes, et pour constituer des ressources génétiques organisées et exploitables, une étape essentielle au travail d'amélioration génétique (Caboche, 2008). La génomique donne l'occasion de comprendre, de manière générale, les causes de la diversité et la fonction des organismes vivants, comme les plantes.

La génomique végétale est décrite comme l'étude et l'amélioration des nouvelles variétés végétales grâce à l'examen du génome entier des espèces végétales et au séquençage des nucléotides afin de trouver les gènes qui en font partie. La génomique fournit des renseignements précieux pouvant contribuer à la découverte de nouveaux gènes qui permettront d'accroître le rendement agricole, de comprendre la variabilité génétique et de déterminer les marqueurs génétiques rendant possible l'amélioration des cultures grâce à une sélection prédictive plus ciblée, rapide et efficace.

La génomique comprend deux volets complémentaires : la caractérisation de la nature physique du génome complet (la génomique structurale) et la caractérisation des profils d'expression des gènes (la génomique fonctionnelle). Ces deux approches sont essentielles pour la cartographie, la caractérisation fine d'un locus à intérêt économique (ETL) et pour l'identification du ou des gènes contrôlant le caractère étudié. Il est à souligner que la ressource de base pour l'identification d'un ETL dans un génome est constituée de populations "ressources" avec des données phénotypiques fiables et des échantillons d'ADN génomiques correspondants (Sonstegard *et al.*, 2001).

Une meilleure connaissance au niveau moléculaire des gènes impliqués dans la résistance/sensibilité aux stress abiotiques devrait aider au développement de nouvelles variétés mieux adaptées aux contraintes environnementales. Par ailleurs, l'adaptation des plantes aux différents stress abiotiques est un phénomène complexe, impliquant directement ou indirectement de nombreux gènes dans les chaînes de perception et de transduction des signaux ainsi que dans les mécanismes de régulation de l'expression d'autres gènes

IV-2- La génomique et l'amélioration du blé

Les progrès de la génomique et de la post-génomique interviennent à plusieurs niveaux :

1- le marquage moléculaire permet de repérer les régions chromosomiques contenant des gènes d'intérêt. Il est utilisé dans la sélection assistée par marqueurs, qui permet d'exploiter la diversité naturelle.

2- l'analyse de l'expression des gènes : la transcriptomique et la protéomique permettent de repérer les gènes régulés par la sécheresse. Cette connaissance peut être ensuite utilisée dans l'utilisation de la variabilité naturelle ou dans l'amélioration par transgénèse.

3- la transgénèse permet la modification de l'expression d'un ou de plusieurs gènes.

IV-2-1-Principaux types de marqueurs moléculaires appliqués pour l'amélioration du blé.

Les marqueurs moléculaires sont constitués de séquences d'ADN caractéristiques d'un individu ou groupe d'individus. Contrairement aux marqueurs traditionnels (morphologiques et biochimiques), ils ne sont pas influencés par l'environnement et sont observables à n'importe quel stade de développement de la plante et sur n'importe quel organe (**Moulet et al., 2009**).

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 (Polymerase Chain Reaction). 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.

IV-2-1-1- Marqueurs RFLP

La technique RFLP repose sur la digestion d'un DNA cible par une ou plusieurs enzymes de restriction spécifiques des sites de restriction portés par le DNA.

Après [électrophorèse](#), les fragments séparés sont hybridés avec un ADN sonde, provenant souvent de banques de DNA génomique ou complémentaire. Cette sonde peut provenir d'une espèce proche de l'espèce à étudier (sonde hétérologue).

IV-2-1-2- Marqueurs de type PCR

Le développement de la technique PCR offre l'avantage d'analyser les marqueurs moléculaires en un temps court tout en utilisant des concentrations faibles d'ADN. Les marqueurs basés sur la technique PCR tendent à remplacer les systèmes classiques (les marqueurs morphologiques, iso-enzymatiques et RFLP) et deviennent très nombreux. Les plus largement utilisés chez le blé sont les microsatellites ou SSR (Simple Sequence Repeat) ; l'AFLP, (Amplified Fragment Length Polymorphism) et la RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA).

IV-2-1-2-1- Les microsatellites SSR :

Sont des marqueurs moléculaires basés sur la PCR. Ils sont constitués de séquences de di-, tri- ou tétra-nucléotides répétés en tandem (toujours dans le même sens, par opposition à répétitions inversées répétées). Ces éléments sont uniformément répartis en plusieurs exemplaires sur l'ensemble du génome d'une espèce et présentent un taux de polymorphisme élevé. Ce polymorphisme repose sur la variation du nombre d'unités de répétition constituant le microsatellite (**Morgante, Olivieri, 1993**).

IV-2-1-2-2- La technique AFLP :

La technique AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), est fondée sur la mise en évidence conjointe de polymorphisme de sites de restriction et d'hybridation d'amorces arbitraires. Cette technique utilise à la fois les enzymes de restriction et l'amplification PCR. L'AFLP révèle plusieurs loci simultanément et possède un polymorphisme du type présence/absence (**Vos et al., 1995**).

IV-2-1-2-3- La technique RAPD

Elle consiste en l'amplification par PCR de fragments de l'ADN génomique en utilisant des amorces arbitraires de taille courte (10 pb). Cette technique est simple, rapide et ne nécessite ni un marquage radioactif ni une connaissance préalable de la séquence nucléotidique. Néanmoins, la RAPD manque de reproductibilité puisqu'elle est très sensible à la concentration de l'ADN et aux conditions d'amplification.

IV-2-2- Apport des marqueurs moléculaires à l'amélioration du blé

L'essor des techniques de marquage moléculaire au cours des dernières années a induit des changements considérables dans plusieurs branches de la biologie, notamment la biologie moléculaire (clonage positionnel), la génétique évolutive (cartographie comparative), la génétique quantitative (détection et identification des locus contrôlant les caractères quantitatifs (QTL) et l'amélioration des espèces (sélection assistée par marqueurs). Les marqueurs de l'ADN ont des applications importantes en sélection, ils permettent d'une part, de positionner sur une carte génétique des gènes/QTL codant pour des caractères d'intérêt et d'autre part, de les suivre dans un schéma de sélection.

IV-2-2-1-La cartographie d'un caractère quantitatif

De très nombreux caractères sont des caractères mesurables comme le rendement, la précocité, la taille, la qualité des fruits. On observe une variation continue de leur valeur. Dans ce cas, il n'y a plus d'opposition absolue entre deux [phénotypes](#) comme, par exemple : résistant/sensible. On admet que plusieurs secteurs chromosomiques, portant un ou plusieurs [gènes](#), sont impliqués dans le contrôle de ces caractères dits quantitatifs, et que de nombreux [allèles](#) sont responsables de la variabilité. Ces [locus](#) sont appelés [QTL](#) : Quantitative Trait Loci (Locus de Caractères Quantitatifs).

IV-2-3- Analyse de l'expression des gènes et de l'accumulation des protéines

L'analyse à grande échelle des ARN (transcriptome) et des protéines (protéome) permet d'étudier l'expression des gènes et les variations quantitatives des protéines en

conditions de déficit hydrique. Ces analyses ont permis d'identifier des gènes induits lors d'un déficit hydrique, qui participent potentiellement aux réponses de la plante.

En analysant la variation d'expression sous l'effet du déficit hydrique dans différents génotypes, les analyses du transcriptome et du protéome permettent aussi de mettre en évidence des gènes ou des protéines « candidats », dont la variation d'expression pourrait être la cause des variations phénotypiques entre les génotypes analysés (**Jeanneau et al., 2002**). Ces candidats peuvent ensuite être utilisés en sélection assistée par marquage (on sélectionne les génotypes qui possèdent l'allèle favorable) ou en transgénèse (on sur-exprime le gène candidat).

IV-2-3-1- Techniques fondées sur l'hybridation

IV-2-3-1-1- Les biopuces

Les premières puces à ADN sont apparues en 1993, mais leur concept date de 1987 (**Bellis et Casellas, 1997**). Les puces à ADN offrent de nouvelles voies d'analyse de l'expression et de la structure du génome. Elles sont un outil puissant qui permet de collecter un ensemble considérable de données sur le génome et son expression en un temps court et à partir de peu de matériel biologique.

Les puces à ADN sont aussi appelées puces à gènes, biopuces ou par les termes anglais « DNA chip, DNA-microarray, biochip ».

Les puces à ADN permettent des tests plus rapides, plus sensibles et plus spécifiques. En évitant certaines étapes préliminaires telle que la culture, cela permet d'obtenir un résultat en quelques heures là où plusieurs jours étaient auparavant nécessaires. Schématiquement, les puces à ADN sont des supports (lame de verre ou de silicium, de différente taille) sur lesquels sont régulièrement répartis des morceaux d'ADN simple brin, aussi appelés sondes (permet d'étudier l'expression du gène) et dont l'enchaînement des bases est connu. La cible est l'ADN simple brin qui doit être analysé, car l'enchaînement de ses bases est inconnu. Avant d'être déposé sur la puce, il est marqué à l'aide d'une molécule fluorescente. Lorsque la cible est mise en contact avec la sonde, seuls les bouts d'ADN complémentaires vont s'hybrider. La puce est ensuite lavée plusieurs fois afin qu'il ne reste sur la lame que les brins qui se seront

parfaitement appariés. A l'endroit où les deux brins d'ADN s'apparient, il apparaît un spot lumineux (**Pronost et al., 2010**).

IV-2-3-1-2- La PCR en temps réel

La réaction de PCR en temps réel ou qPCR est une technique quantitative qui permet d'analyser finement l'expression de gènes d'intérêt. La technologie de PCR en temps réel est aujourd'hui l'outil de choix qui a permis de simplifier et de quantifier le nombre de molécules ou de copies d'un gène ou d'un messager d'intérêt dans un échantillon donné.

Ses performances peuvent se résumer en quatre mots : spécificité, sensibilité, bonne reproductibilité et linéarité sur une gamme dynamique comprise entre 10 et 10⁸ copies. Les applications sont très vastes et ne se limitent pas qu'à la quantification des acides nucléiques. La détection de mutations ponctuelles et de polymorphismes ainsi que la recherche de délétions géniques à l'état hétérozygote sont les autres grandes applications de la PCR en temps réel (Tse et Capeau, 2003).

IV-2-3-3- Techniques fondées sur la migration électrophorétique

IV-2-3-2-1- La protéomique

L'information sur les taux d'ARNm n'est pas suffisante pour étudier et analyser la régulation de l'expression d'un gène dans la cellule. Les données sur l'expression des [protéines](#) (protéome) sont souvent plus informatives. Ce qui compte, en effet, dans une cellule, c'est le degré d'activité des protéines, qui se trouvent fréquemment modulées et régulées par des modifications post-traductionnelles. Ainsi, le défi de la protéomique consiste à trouver des moyens de mesurer les protéines actives à l'échelle du protéome et de connaître avec quels composants de la cellule elles interagissent (ADN, ARN, autres protéines et molécules).

IV-2-4- La transgénèse

La transgénèse est un moyen essentiel pour étudier le rôle des gènes dans l'expression des fonctions biologiques ainsi que leur fonctionnement. Elle permet également d'envisager des applications biotechnologiques diverses. Bien que vieille de vingt ans chez les animaux et de dix-sept ans chez les végétaux, elle souffre encore de limites techniques qui sont progressivement repoussées (Houdebine, 2000).

La transgénèse à la fois un outil qui élargit considérablement la variabilité génétique à la disposition du sélectionneur, en lui permettant d'obtenir des caractères jusque-là inconnus chez une espèce, et un outil qui permet d'utiliser plus précisément cette variabilité. Cet outil permet aussi d'aller plus loin dans l'amélioration des caractères quantitatifs (pour la tolérance à la sécheresse, par exemple). Les progrès encore à venir dans la maîtrise de cette technique sont tels que les généticiens et les sélectionneurs pourront sans doute introduire tout gène d'intérêt dans n'importe quel génotype, puis contrôler son insertion et son expression (**Gallais, 2015**).

Dans le monde, en 2014, il y avait plus de 181 millions d'hectares cultivés avec des variétés transgéniques. On observe toujours une augmentation assez régulière des cultures transgéniques, avec environ 8 à 10 millions d'hectares de plus chaque année, dans le monde. Maintenant, les cultures transgéniques se développent également hors du continent américain, en Chine et en Inde et dans d'autres pays en développement, notamment en Afrique (Burkina Faso). Les espèces concernées sont essentiellement (à 99%) le soja, le maïs, le cotonnier et le colza (canola), mais des variétés transgéniques sont aussi commercialisées pour la pomme de terre, la betterave, le riz, la papaye, les courges, l'aubergine... Des programmes sur le blé sont très avancés (résistance aux pucerons, tolérance à la sécheresse...) (**Gallais, 2015**).

Chez le blé, pour la protection contre les effets de la toxine de *Fusarium graminearum*, un gène issu d'un autre *Fusarium* (sporotrichoides) a été introduit, non pas pour entraîner la résistance au champignon, mais pour inactiver la toxine dès sa synthèse (**Okubara et al., 2002**).

D'autres travaux pour protéger le blé contre la carie, ont consisté à introduire chez le blé un gène (KP4) d'un virus codant pour une protéine antifongique, dite protéine tueuse (**Clausen et al., 2000**).

IV-2-5- Le séquençage

La génomique structurale se propose, à terme, de déterminer la séquence complète du génome d'un organisme et ainsi mettre à disposition des données précises et détaillées en ce qui concerne l'organisation de ce génome. Mais le séquençage d'un génome ne peut être entrepris qu'après quelques travaux préliminaires indispensables consistant à construire des outils de balisage adéquats. La boîte à outils du cartographe

contient donc des marqueurs génétiques, véritables traceurs de l'information génétique, des cartes génomiques, ordonnant les marqueurs les uns par rapport aux autres ou les positionnant sur un chromosome ou une région chromosomique, ainsi que des collections de fragments d'ADN représentatives du génome à étudier.

L'accélération récente des programmes de séquençage des génomes végétaux permet maintenant l'essor de la génomique, dont les buts sont de faciliter l'isolement de gènes d'intérêt chez les différentes espèces et de comprendre les processus d'évolution et de domestication des génomes (**Delseny, 2009**). Grâce au séquençage, il est possible d'étiqueter les régions du génome des plantes leur conférant les caractères agronomiques souhaités. La première espèce végétale dont le génome a été entièrement séquencé, en 2000, est l'Arabette des dames (*Arabidopsis thaliana*). Le riz l'a rejointe en 2005, puis le peuplier, la tomate, le maïs (2009), la pomme de terre, et enfin la vigne. Le génome du blé n'a pas encore été complètement séquencé (**Gaufichon et al., 2010**).

En 2010 Une équipe de chercheurs britanniques a travaillé sur la variété dite *Chinese Spring*, il a indiqué avoir réalisé une ébauche de la séquence du génome de blé. Cette découverte demeure une étape vers le séquençage complet du génome du blé et pourra être utilisée pour identifier plus rapidement les différences entre deux variétés de blés, et ainsi repérer des caractéristiques jugées intéressantes, comme la résistance à la sécheresse ou à des maladies, et créer des variétés donnant de meilleurs rendements.

Le Consortium international de séquençage du génome du blé (« International Wheat Genome Sequencing Consortium » – IWGSC) a publié ébauche de la séquence du génome du blé tendre dans le journal scientifique international *Science*. L'ébauche, chromosome par chromosome, apporte un nouvel éclairage sur la structure, l'organisation et l'évolution de ce génome complexe et de grande taille qui est celui de la céréale la plus cultivée au monde (**Mayer et al., 2014**).

La publication de l'ébauche génétique est une étape majeure vers l'obtention d'une séquence de référence du génome du blé tendre, l'objectif ultime du Consortium. Dans le même numéro de *Science*, un autre article présente la première séquence de référence du plus grand chromosome, le 3B. Celle-ci fournit une validation de la méthode et un modèle pour le séquençage des autres chromosomes. À ce jour, les

Chapitre IV : Apports de la génomique pour l'étude de la tolérance au stress hydrique

chercheurs de l'IWGSC estiment que le séquençage complet du génome du blé pourra être réalisé en trois ans (**Mayer et al., 2014**).

L'accès de séquençage du génome du blé pourra être utilisé pour visionner les séquences afin d'identifier de gènes d'intérêt, puis faire la sélection assistée par marqueurs et le croisement orienté afin d'augmenter le rendement.

Conclusion

Conclusion

La production de blé dur, comme le reste des cultures céréalières est limitée par le déficit hydrique qui représente de réelle contrainte affectent les rendements (**Turki et al., 2014**). La tolérance au déficit hydrique demeure la résultante de plusieurs mécanismes. L'expression de différents gènes et l'accumulation de divers osmolytes sont les principaux mécanismes de la tolérance (**Jia et al., 2008**).

Le stress induit une diversité de réponses qui résultent de l'expression génique et des modifications du métabolisme cellulaire, se traduisant par une variation de la croissance et du développement de la plante (**Gilmour et al., 1998**).

Les gènes impliqués dans la réponse à la contrainte hydrique, codent pour une large gamme de protéines. Ces protéines jouent un rôle dans l'adaptation de la plante et de ce fait de nombreux chercheurs abordent la résistance au stress par l'isolement et l'étude de ces molécules (**Campalans et al., 1999**). Elles assurant diverses fonctions. Parmi ces fonctions, il y a la régulation de l'expression des gènes induits directement dans la réponse au stress, la protection et le maintien des fonctions et structures cellulaires.

L'utilisation des outils de la génomique fournissent des données utiles sur la variation de l'expression des gènes, des profils d'expression des protéines et des métabolites, en réponse à la contrainte hydrique. Un objectif majeur de la génomique consiste à obtenir une connaissance et une compréhension exhaustives de la structure et de la fonction des génomes à travers une caractérisation moléculaire détaillée de la totalité du génome. Ainsi, les approches génomiques permettent d'envisager la dissection des composantes génétiques des caractères qualitatifs et quantitatifs plus ou moins complexes et de considérer de façon raisonnée leur utilisation dans la sélection végétale (sélection assistée par marqueurs).

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Abbassenne F., Bouzerzour H., Hachemi L. 1998. Phénologie et production du blé dur (*Triticum durum* Desf.) en zone semi-aride d'altitude. Agron. INA. **18**: 24-36.

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

Anonyme. 2012. Le monde du blé. [En ligne], Adresse URL : www.alternatives-internationales.fr/le-monde-du-ble_fr . Page consulté le (18/04/2016).

Aoul M. T. 2007. Impacts des changements climatiques sur l'agriculture et les ressources en eau : stratégie d'adaptation et cadre de mise en œuvre (Oran – Algérie). Conférence internationale. Solidarité Internationale pour une stratégie contre le changement climatique en Afrique et dans la région de la Méditerranée. Tunisie.

Attia F. 2007. Effet du stress hydrique sur le comportement écophysologique et la maturité phénologique de la vigne (*Vitis vinifera* L.) : Etude de cinq cépages autochtones de Midi-Pyrénées. Thèse INP, Toulouse (France), 194 p.

Bellis M., Casellas P. 1997. La puce ADN un multi-réacteur de paillasse, Med Sci. **13** :1317-24.

Branlard G., Pujos E., Nadaud I., Bancel E., Piquet A. 2012. Nouveaux outils pour une analyse fine de la composition des grains. Innovations Agronomiques. **19**: 37-49.

Blum A. 1988. Plant breeding for stress environments. (Ed). CRC Press, 223p.

Bonjean A. 2001. Histoire de la culture des céréales et en particulier celle de blé tendre (*Triticum aestivum* L.). Dossier de l'environnement de l'INRA. **21**: 29-37.

Bonjean A., Picard E. 1990. Les céréales à paille origine, historique, économie et sélection. (Ed). Nathan, 235p.

Références bibliographiques

Bouchabke O., Tardieu F., Simonneau T. 2006. Leaf growth and turgor in growing cells of maize (*Zea mays* L.) respond to evaporative demand under moderate irrigation but not in water-saturated soil. *Plant Cell and Environment*. **29**: 1138-1148.

Boulal H., El Mourid M., Rezgui S., Zeghouane O. 2007. Guide pratique de la conduite des céréales d'automne (blés et orge) dans le Maghreb (Algérie, Maroc, Tunisie). Edition: ITGC, INRA Algérie et ICARDA, 176p.

Bouthiba A. A., Debaeke P., Hamoudi S. A. 2010. Varietal differences in the response of durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. durum) to irrigation strategies in a semi-arid region of Algeria. *Irrigation Science*. **26**: 239-251.

Bray E., Bailey-Serres J., Weretinlyk E. 2000. Responses to abiotic stresses In: *Biochemistry and Molecular Biology of plants*. **Buchanan W., Gruissem W., Jones R. 2000.** (Ed) American Society of plant physiologists, p1158-1203.

Caboche M. 2008. La génomique végétale et les plantes cultivées. Unité de Recherches en Génomique Végétale, INRA, p 06-08.

Cadi A. 2005. Caractérisation des zones céréalières potentielles à travers le nord d'Algérie. *ITGC. Céréaliculture*. **44**: 36-39.

Campalans A., Messeguer R., Goday A., Pagès M. 1999. Plant responses to drought, from ABA signal transduction events to the action of the induced proteins. *Plant Physiol. Biochem*. **37**: 327 - 340.

Campbell S. A., Close T. J. 1997. Dhydrins: genes, proteins and association with phenotypic traits. *New phytol*. **137**: 61 - 74.

Cauderon. 1979. Etudes des relations physiologiques chez le blé: cytogénétique et biochimique. Journées d'études. Biochimie et génétique du blé. INRA. Paris, p 30-33.

Références bibliographiques

Cellier F., Conejero G., Breitler J. C., Casse F. 1998. Molecular and physiological responses to water deficit in drought-tolerant and drought-sensitive lines of sunflower. Accumulation of dehydrin transcripts correlates with tolerance. *Plant Physiology*.

116: 319-328.

Chaves M. M., Pereira J. S., Maroco J., Rodrigues M. L., Ricardo C. P. P., Osorio M. L., Carvalho I., Faria T., Pinheiro C . 2002. How plants cope with water stress in the field. Photosynthesis and growth. *Annals of Botany*. **89:** 907-916.

Chaves M. M., Maroco J. P., Pereira J. S. 2003. Understanding plant responses to drought - from genes to the whole plant. *Functional Plant Biology*. **30:** 239- 264.

Chehat F. 2007. Analyse macroéconomique des filières, la filière blés en Algérie. Projet PAMLIM : Perspectives agricoles et agroalimentaires Maghrébines Libéralisation et Mondialisation Alger : p7-9.

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

CIC. 2007. International Grains Council. World Grains Statistics, p13-17.

CIC. 2013. Marché des céréales. [En ligne], Adresse URL : <http://www.igc.int/>, Conseil international des céréales. Page consulté le (22/05/2016).

Clausen M., Kräuter R., Schachermayr G., Potrykus I., Sautter C. 2000. Antifungal activity of a virally encoded gene in transgenic wheat. *Nature Biotech*. **18:** 446-449.

Close T. J. 1996. Dehydrins: emergence of a biochemical role for a family of plant dehydration proteins, *Physiol. Plant*. **97:** 795-803.

Références bibliographiques

Close T. J. 1997. Dehydrins: a commonality in the response of plants to dehydration and low temperature. *Physiol. Plant.* **100**: 291-296.

Cook J., Johnson V. A., Allan R. E. 1991. Le blé. In: Greff.M.W. (Ed). 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, p27-38.

Delseny M. 2009. Le séquençage des génomes de plantes : vers une nouvelle révolution en biologie végétale. Laboratoire Génome et développement des plantes (LGDP) UMR, IRD Université de Perpignan, France. **18**: 6.

Denden M., Bouslama M., Slimi H., Bouaouina T. 2005. Action du trajet foliaire de diffusion de l'eau et de l'épaisseur de la cuticule sur la transpiration. *Sécheresse.* **16**: 125- 129.

Djermoun A. 2009. La production céréalière en Algérie : les principales caractéristiques. *Natureet Technologie*, p 45-53.

Dugo M. V. G. 2002. Effet du déficit hydrique sur l'état de nutrition azotée chez les graminées fourragères. Thèse Université de Poitiers (France), 189p.

Dure L., Crouch M., Harada J., Ho T. D., Mundy J., Quatrano R., Thomas T., Sung Z. R. 1989. Common amino acid sequence domains among the LEA proteins of higher plants. *Plant Molecular Biology.* **12**: 475-486.

Escolana J. M., Flexas J., Nadal M., Lampreave M., Lopez M., Zaballa O., Garcia-Escodero E., Medrano H. 2000. Soil water effects on daily and seasonal sap flow and leaf transpiration in grapevines. **6**: 11-15.

Escalona J. M., Tomás M., Martorell S., Medrano H., Ribas-Carbo M., Flexas J. 2012. Carbon balance in grapevines under different soil water supply: importance of whole plant respiration. *Australian Journal of Grape and Wine Research.* **18**: 308-318.

Références bibliographiques

FAO. 2016. Perspectives de récolte et situation alimentaire. Aperçu de la production mondiale, p 6-12.

Feuillet C., Langridge P., Waugh R. 2008. Cereal breeding takes a walk on the wild side. *Trends Genet.* **24**: 24-32.

Feillet P. 2000. Le grain de blé composition et utilisation. (Ed). INRA, Paris, p303-308.

Feldman M. 1976. Taxonomic Classification and Names of Wild, Primitive, Cultivated, and Modern Cultivated Wheats. Dans: Simmonds, N.W. (Ed). *Evolution of Crop Plants*. Longman, Londres, p120-128.

Foucand I. 2011. Le réchauffement climatique menacerait l'agriculture. [En ligne], Adresse URL : www.lefigaro.fr/.../04012--le-rechauffement-climatique-me. Page consulté le (30/05/2016).

Fredot E. 2005. *Connaissance des aliments*. (1^{ère} Ed). Lavoisier. Paris, 397p.

Gallais A. 2015. Comprendre l'amélioration des plantes : Enjeux, méthodes, objectifs et critères de sélection. (Ed). Quae. Paris, 240p.

Gaufichon L., Prioul J. L., Bachelier B. 2010. Quelles sont les perspectives d'amélioration génétique de plantes cultivées tolérantes à la sécheresse, 68p.

GIEC. 2007. Groupe d'Experts Intergouvernemental sur l'Évolution du Climat, Rapport d'évaluation du GIEC sur le changement climatique. Genève, Suisse.

Gilmour S. J., Zarka D. G., Stockinger E. J., Salazar M. P., Houghton J. M., Thomashow M. F. 1998. Low temperature regulation of the Arabidopsis *CBF* family of *AP2* transcriptional activators as an early step in cold-induced *COR* gene expression. *Plant J.* **16**: 433-442.

Références bibliographiques

Hervieu B., Capone R., Abis S. 2006. The challenge posed by the cereals sector in the Mediterranean. Ciheam analytical note. **9**: 14.

Hireche Y. A. 2006. Reponse de la luzerne (*Medicago sativa* L) au stress hydrique et à la profondeur de semis. Mémoire de Magister, Université Al Hady Lakhdar-Batna (Algérie), 83p.

Hong-Bo S., Zong-Suo L., Ming-An S. 2005. LEA proteins in higher plants: structure, function, gene expression and regulation, Colloids Surf. B. Biointerfaces. **45**: 131-135.

Hopkins. 2003. Physiologie végétale. (Ed). Révision scientifique de Charles. Marie Evard, p 23-453.

Houdebine L. M. 2000. Modifications génétiques animales et végétales : méthodes de transgénèse et expression des transgènes. **16**: 1017.

Huang S., Sirikhachornkit A., Su X., Faris J., Gill B., Haselkorn R., Gornicki P. 2002. Genes encoding plastid acetyl-CoA carboxylase and 3- phosphoglycerate kinase of the Triticum /Aegilops complex and the evolutionary history of polyploidy wheat. **99**: 8133-8138.

Jia X. I., CYi Xu R. L., Jing R. Z. Li., Mao X. G., Wang J. P., Chang X. P. 2008. Molecular cloning and characterization of wheat CalRe Ticulin (CRT) gene involved in drought-stressed responses. **59**: 739–751.

Jeanneau M., Gerentes D., Fouillassard X., Zivy M., Vidal J., Toppan A., Perez P. 2002. Improvement of drought tolerance in maize towards the functional validation of the Zm-Asr1 gene and increase of water use efficiency by over-expressing C4-PEPC. Biochimie. **84**: 1127-1135.

Josis P., Ndayshimye V., Renard C. 1983. Etude des relations hydriques chez *Coffea arabica* L, évaluation à la résistance à la sécheresse de divers cultivars à Gisha (Burundi). **4**: 275-281.

Références bibliographiques

Kara Y., Bellkhiri C. E. 2011. Etude des caractères d'adaptation au déficit hydrique de quelques variétés de blé dur et d'espèces sauvage apparentées : intérêt potentiel de ces variétés pour l'amélioration de la production, 119p.

Kezih R., Bekhouche F., Merazka A. 2014. Some traditional Algerian products from durum wheat. African Journal of Food Science. **8**: 30-34.

Langridge P., Lagudah E. S., Holton T. A., Appels R., Sharp P. J., Chalmers K. J. 2001. Trends in genetic and genome analyses in wheat: a review. Aust. J. Agric. Res. **52**: 1043-1077.

Larcher W. 2000. Temperature stress and survival ability of Mediterranean sclerophyllous plants. Plant Biosystems. **134**: 279-295.

Latini A., Rasi C., Sperandei S., Cantale C., Iannetta M., Dettori M., Ammar K., Galeffi P. 2006. Identification of a DREB-related gene in *triticum durum* and its expression under water stress conditions. Annals of Applied Biology. **150**: 187-195.

Leverve X. 2007. Les céréales jouent un rôle de premier plan dans l'équilibre alimentaire. Alimentation et céréale. **7**: 1-4.

Levitt J., Sullivan C. Y., Krull E. 1960. Some problems in drought resistance. Bull. Res. **8**: 173-180.

Levy A. A., Feldman M. 2002. The impact of polyploidy on grass genome evolution. Plant Physiol. **130**: 1587-1593.

Mardis. 2011. A decade's perspective on DNA sequencing technology, Nature. **470**: 198-203.

Références bibliographiques

Maurel C., Chrispeels M. J. 2001. Aquaporins: a molecular entry into plant water relations. *Plant Physiology*. **125**: 135-138.

Mayer K. X., et al. 2014. A chromosome-based draft sequence of the hexaploide bread wheat (*Triticum aestivum*) genome. *Science*. **346**: 1-11.

Mazouz L. 2006. Etude de la contribution des paramètres phénol-morphologiques dans l'adaptation du blé dur (*Triticum durum* Desf) dans l'étage bioclimatique semi- aride. Mémoire de Magister, université Hadj Lakhdar, Batna, 7p.

McDowell N., Pockman W. T., Allen C. D., Breshears D. D., Cobb N., Kolb T., Plaut J., Sperry J., West A., Williams D. G., Yezpe E. A. 2008. Mechanisms of plant survival and mortality during drought: why do some plants survive while others succumb to drought? *New Phytologist*. **178**: 719-739.

Mefiti A., Abdelguerfi A., Chebouti A. 2000. Etude de la tolérance à la sécheresse chez quelques populations de *Medicago truncatula* (L.). *Field Crops Research*. **66**: 165-174.

Miège E. M. 1950. Les principales espèces et variétés de blé cultivées en Afrique du nord. *Revue Internationale de Botanique Appliquée et d'Agriculture Tropicale*. **30**: 16-38.

Morgante M., Olivieri A. M. 1993. PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics. *Plant J*. **3**: 175-182.

Moulet O., Fossati D., Mascher F., Schori A., Guadagnuolo R. 2009. Les marqueurs moléculaires comme outils dans la sélection des céréales, *Agric*. **40**: 133-138.

Okubara P. A., Blechl A. E., McCormick S. P., Alexander N. J., DillMacky R., Hohn T. M. 2002. Engineering deoxynivalenol metabolism in wheat through the expression of a fungal trichothecene acetyltransferase gene. **106**: 74-83.

Références bibliographiques

Ouvrard O., Cellier F., Ferrare K., Tusch D., Lamaze T., Dupuis J. M., Casse-Delbart F. 1996. Identification and expression of water stress- and abscisic acid-regulated genes in a drought-tolerant sunflower genotype. *Plant Molecular Biology*. **31**: 819-829.

Philippe J. 2007. Pratiques agricoles, gestion des ressources naturelles et changement climatique au Maghreb et en Afrique subsaharienne. Conférence internationale Solidarité internationale pour une stratégie contre le changement climatique en Afrique et dans la région de la Méditerranée. Tunisie.

Piccard E. 1988. Sélection du blé dur. L'intégration de biotechnologies, p 48-58.

Pronost S., Léon A., Blanchard B., Rouillard T., Fortier G. 2010. L'utilisation des puces à ADN en recherche.

Rafalski J. A. 2002a. Novel genetic mapping tools in plants: SNPs and LD-based approaches. *Plant Sci*. **162**: 329-333.

Rafalski J. A. 2002b. Applications of single nucleotide polymorphisms in crop genetics. *Plant Biol*. **5**: 94-100.

Ramanjulu S., Bartels D. 2002. Drought and desiccation-induced modulation of gene expression in plants. *Plant Cell and Environment*. **25**: 141-151.

Rastoin J. L., Benabderrazik H. 2014. Céréales et oléo protéagineux au Maghreb, 6p.

Sakamura. 1918. L'origine des blés. In: **Gallais A., Bannerot H. 1992.** Amélioration des espèces végétales cultivées. INRA Editions, 23p.

Références bibliographiques

Smart L. B., Moskal W. A., Cameron K. D., Bennett A. B. 2001. MIP Genes are down-regulated under drought stress in *Nicotiana glauca*. *Plant Cell Physiology*. **42**: 686-693.

Sonstegard T. S., Van Tassel C. P., Ashwell M. S. 2001. *Journal of Animal Science*. **79**: 307-315.

Tadger R. 2015. Légère hausse de la production de céréales en 2015. [En ligne], Adresse URL : www.tsa-algerie.com/.../legere-hausse-de-la-production-de-cereales-en-2 . Page consulté (24/05/2016).

Teulat B. B., Monneveux P., Wery J., Borries c., Souyriss 1., Charrieri A., This D. 1997. Relationships between relative water content and growth parameters under water stress in barley: a QTL study. *New Phytol*. **137**: 99-107.

Tse C., Capeau J. 2003. Quantification des acides nucléiques par PCR quantitative en temps réel. *Annales de Biologie Clinique*. **61**: 279-293.

Turki N., Shehzad T., Harrabi M., Okuno K. 2014. Detection of QTLs associated with salinity tolerance in durum wheat based on association analysis. *Euphytica*, p1-13.

Turner N. C. 1979. Drought resistance and adaptation to water deficit in crop plants. In: *Stress physiology of crop plants*. MUSSEL et STEPPLES R. C. C. (Ed) WILEY. New York; U.S.A, p343 - 372.

Vos P., Hogers R., Bleeker M., Reijans M., van de Lee T., Hornes M., Frijters A., Pot J., Peleman J., Kuiper M., Zabeau M. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucl. Acids Res*. **23**: 4407-4414.

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

Références bibliographiques

Wise M. J. 2003. LEAping to conclusions a computational reanalysis of late embryogenesis abundant proteins and their possible roles BMC Bioinformatics. **4**: 52.

Witcombe J., Hollington P., Howarth C., Reader S., Steel K. 2009. Breeding for abiotic stresses for sustainable agriculture. Phil. Trans. R. Soc. B. **363**: 703-716.

Wood A. J., Saneoka H., Rhodes D., Joly R. J., Goldsbrough P. B. 1996. Betain aldehyde dehydrogenase in Sorghum. Plant Physiol. **110**: 1301-1308.

Xu D., Duan X., Wang B., Hong B., Ho T., Wu R. 1996. Expression of a Late Embryogenesis Abundant protein gene, HVA1, from barley confers tolerance to water deficit and salt stress in transgenic rice, Plant Physiol. **110**: 249-257.

Yamada S., Komori T., Myers P. N., Kuwata S., Kubo T., Imaseki H. 1997. Expression of plasma membrane water channel genes under water stress in *Nicotiana excelsior*. Plant Cell Physiology. **38**: 1226-1231.

Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K. 1992. A novel Arabidopsis DNA binding protein contains the conserved motif of HMG-box proteins. Nucleic Acids Res. **20**: 6737.

Zitouni A. 2015. L'Algérie se détourne du blé français pour s'approvisionner auprès d'autres pays européens.

Année universitaire : 2015/2016

Présenté par : BENKHELLEF Imen

Stratégies génomiques pour une meilleure tolérance au stress hydrique chez le blé dur (*Triticum durum* Desf)

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biologie et génomique végétale.

Résumé

Le blé est une céréale importante en terme de consommation humaine dans de nombreux pays du monde. Il est cultivé principalement dans les pays du bassin Méditerranéen à climat arides et semi-arides. Dans ces zones, le stress hydrique est l'un des facteurs limitant de la productivité végétale et du rendement agricole. L'amélioration de la tolérance reste un objectif de sélection prioritaire dans ces zones. Ce travail présente une recherche bibliographique sur la mise au point des voies et outils de la génomique dans l'amélioration de la tolérance, la génomique renforce et renouvelle les concepts et les démarches de l'amélioration des plantes. L'utilisation des outils de la génomique tels que : les marqueurs moléculaires, les puces à ADN, la transgénèse, le séquençage, etc... fournissent des données utiles sur la variation de l'expression des gènes, des profils d'expression des protéines et des métabolites, en réponse à la contrainte hydrique.

Mots clés : Blé dur, stress hydrique, tolérance, génomique, amélioration, expression génique.

Laboratoire de recherche : /

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mme. **BOUSBA Ratiba**. Docteur UFM Constantine.

Rapporteur : Mme. **KACEM Nadia Sandra**. Maitre assistante UFM Constantine.

Examineur : Mme. **GHIQUA-BOUCHTAB Karima**. Maitre assistante UFM Constantine.

Date de soutenance : 16/06/2016