

UNIVERSITE MENTOURI CONSTANTINE
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET D'ECOLOGIE



N° d'ordre

N° de série

Thèse

En vue de l'obtention du Doctorat ES Science En Biologie Végétale

OPTION : Bases génétique de la production végétale

THEME

Caractérisation de la tolérance à la sécheresse chez le blé dur

(Triticum durum Desf):

Analyse de la physiologie et de la capacité en production

Par

BOUSBA Ratiba

Soutenue le : / / 2012

Devant le jury composé de :

Président: Pr. Djekoun Abdelhamid Professeur Univ. Mentouri Constantine

Rapporteur: Pr. Ykhlef Nadia Professeur Univ. Mentouri Constantine

Examineurs :

Pr. Boudjeniba Messaoud Professeur ENS Alger

Pr. Hafsi Miloud Professeur Univ. Ferhat Abbas Sétif

Dr. Benbelkacem Abdelkader Directeur de recherche INRA Constantine

A la mémoire de mon père
Nous ne t'oublierons jamais et dans nos
cœurs, tu resteras à jamais.
A ma mère, de tout mon cœur
A mon époux
A mes perles précieuses, mes enfants
A mes frères et sœurs
A mes beaux parents
A toute ma famille

Remerciements

Bien qu'une thèse soit un travail individuel, nombreuses sont les personnes qui ont rendu possible la réalisation de ce travail et que je tiens à remercier ici.

Cette thèse n'aurait pas vu le jour sans la confiance, la patience et la générosité de mon directeur de thèse, Pr Nadia Ykhlef, Responsable du domaine LMD Faculté SNV, Université Mentouri Constantine, que je veux particulièrement remercier. Je voudrais aussi la remercier pour le temps et la patience qu'elle m'a accordés tout au long de ces années, d'avoir cru en mes capacités et de m'avoir fourni d'excellentes conditions de travail au sein de son équipe. De plus, les conseils qu'elle m'a procurés tout au long de la rédaction, ont toujours été clairs et enrichissants, me facilitant grandement la tâche et me permettant la finalisation de cette thèse.

Je tiens à exprimer mes remerciements au Pr Djekoun Abdelhamid, Recteur à l'Université Mentouri Constantine, qui a accepté d'évaluer mon travail de thèse, pour sa contribution et de m'avoir fait l'honneur de présider ce jury.

Je tiens à exprimer mes remerciements aux membres du jury, qui ont accepté d'évaluer mon travail de thèse: Pr M. Boujniba, Pr M.Hafsi et Dr A.Benbelkacem, pour leur participation au jury et leur lecture du manuscrit

Je tiens aussi à remercier vivement toutes les personnes qui ont contribué à ce travail, de près ou de loin, votre aide a été précieuse :

- Pr G. Branlard et B.Charef ainsi qu'a tout le personnel du laboratoire de Biochimie INRA de Clermont ferrand sans oublier Annie faye, Marielle, Emmanuelle Bancel et E. Nadaud

- Pr M. Baum Chef de département à ICARDA et toute son équipe du laboratoire de Biotechnologie (Fida, Mahmoud, Ines, Sandy, Souheir, Abdulkader et Fatma)

J'adresse mes plus sincères remerciements à tout le personnel du laboratoire de Biochimie génétique et biotechnologie végétale technique et enseignant, sans oublier Mr Belbekri M.N et Mme Torki M.

Je remercie tous mes collègues et amis de la faculté des Sciences de l'Université Mentouri Constantine, que ce soit pour les conseils, les services et plus particulièrement pour l'amitié qu'ils m'ont témoignés.

Résumé

La connaissance des caractères physiologiques, biochimiques et agronomiques impliqués dans les processus d'adaptation des plantes aux contraintes abiotiques constitue une étape décisive de lutte contre la sécheresse. Quarante variétés de blé dur (*Triticum durum*) de diverses origines ont été utilisées dans cette étude. Avec trois expérimentations ; un essai en condition semi contrôlée, un essai au champ et un essai en chambre de culture contrôlée, avec pour chaque expérimentation, des conditions stressantes (déficit hydrique ou pluviales) et irrigué.

Dans le premier essai plusieurs paramètres physiologiques ont été étudiés; sur six variétés de blé dur. Cependant le deuxième essai a été conduit au champ afin de comparer la production et la performance des variétés étudiées dans les conditions de cultures, plusieurs mesures ont été réalisées au cours du développement de la plante ; les caractères phénologiques, physiologiques tel que l'état hydrique de la plante (TRE et RWL) et le potentiel osmotique; les paramètres morphologiques ainsi que le rendement et ses composantes. Une troisième expérimentation a été menée dans cette étude afin de déterminer les bases génétiques de la variation phénotypique par une étude d'association entre les traits agronomiques estimés au champ sur quarante variétés de blé dur présentant des comportements contrastés vis-à-vis à la contrainte hydrique. Cette approche analyse l'association statistique entre la variation phénotypique et le polymorphisme génétique à l'aide de marqueurs moléculaires de type SSR (*Simple Sequence Repeat*).

Les résultats obtenus révèlent des différences variétales hautement significatives pour l'ensemble des paramètres mesurés. Les observations enregistrées montrent que le déficit hydrique provoque, chez toutes les variétés, une diminution progressive du taux de la chlorophylle et une augmentation de la résistance stomatique ce qui se traduit par une chute de l'activité photosynthétique et par conséquent une diminution de la production de la matière sèche. Cependant, sous les mêmes conditions de stress hydrique, les variétés introduites présentent de bonne capacité d'adaptions comparées aux variétés locales. Néanmoins la variété (Beliouni) reste la variété la plus productive comparée aux autres variétés locales. Dans les conditions de ce travail, des corrélations positives sont notées entre la photosynthèse nette et la production de la matière sèche. Ainsi qu'un effet significatif stress et genotype a été révélé pour le deuxième essai, nos résultats montrent que le manque d'eau induit une diminution de la teneur relative en eau TRE et du potentiel osmotique (Po) de toutes les variétés, qui a été ajusté par une accumulation des sucres solubles et de la proline. Cette accumulation des osmotocums était très importante, est très bien marquée chez les variétés stressées, pour les gluténines, on a observé qu'il y a une dissimilarité dans la masse molaire entre la majorité des HPMS des variétés stressées et non stressées, cependant la réponse des différents paramètres exprime des comportements particuliers propres à chaque variété. Concernant l'approche moléculaire et l'association génétique entre variation phénotypique et génotypique. Les résultats de cette partie ont montré que les caractères phénotypiques présentent une variation hautement significative, révélée par une analyse en composantes principales, décrivant 74% de variation totale présentée par deux axes CP1 et CP2 ; ainsi qu'une classification hiérarchique (Cluster) et une analyse factorielle discriminante (AFD) ont été obtenus montrant la répartition des génotypes selon leurs variations phénotypiques, en se basant sur leurs provenances. Pour l'analyse d'association, les résultats montrent que les marqueurs utilisés sont significativement associés avec les traits étudiés. La majorité des marqueurs significativement associés avec les traits étudiés, sont localisés sur le chromosome 4B. Concernant le rendement, trois marqueurs SSR ont été détectés respectivement associés : (*WMS149* ($p < 0.01$), *WMS30_2* ($p < 0.05$), *WMC177_2* ($p < 0.05$)) avec respectivement 68.94%, 99.46% et 49.74% de variation phénotypique, localisés sur les chromosomes 4B, 3A et 2A. aussi, l'hypothèse d'association des SSR avec la date d'épiaison a été testée par le GLM (General Linear Model), deux marqueurs SSR ont été détectés significativement associés il s'agit de : (*WMS6* ($p < 0.01$) localisé sur le chromosome 4B, avec 96.84% de variation phénotypique, et *WMC445* ($p < 0.05$) localisé sur le chromosome 5A avec 32.46% de variation phénotypique. Nos résultats aussi révèlent une diversité allélique importante se caractérisant par des valeurs du contenu informatif du polymorphisme (PIC) assez élevées ; la valeur moyenne obtenue pour l'ensemble des amorces est de 74%, Les plus grandes sont obtenues par les microsatellites *WMC177* et *WMC78* avec (94% et 93%) respectivement et en accord avec le nombre important d'allèles détectés chez ses marqueurs, ceci consolide et justifie le choix d'utiliser ces amorces pour analyser nos variétés de blé dur.

Mots clés : *Triticum durum* Desf, stress hydrique, adaptation, Photosynthèse nette, WUE, R. stomatique TRE, osmolytes, génétique d'association, SSR et PIC.

Abstract

Knowledge of the physiological characteristics, biochemical and agronomic processes involved in plant adaptation to abiotic stresses is a milestone in fight against drought. Forty varieties of wheat (*Triticum durum*) from various sources were used in this study. With three experiments, a semi-controlled test conditions, a field test and a controlled test in growth room, with each experiment, stressful conditions (rain or water deficit) and irrigated.

In the first trial several physiological parameters were studied on six varieties of durum wheat. However, the second trial was conducted in order to compare field production and performance of varieties studied in culture conditions, several measurements were made during development of the plant phenological traits, physiological such as water status of the plant (RWC and RWL) and osmotic potential, morphological parameters and yield and its components. A third experiment was conducted in this study to determine the genetic basis of phenotypic variation. This approach analyzes the statistical association between phenotypic variation and genetic polymorphism using molecular markers like SSR (*Simple Sequence Repeat*).

The results show highly significant genotypic differences for all measured parameters. The recorded observations show that water deficit causes, in all varieties, a progressive decrease of chlorophyll and increased stomatal resistance resulting in a decrease in photosynthetic activity and consequently a decrease in production of dry matter. However, under the same conditions of water stress, introduced varieties have good ability to adaptations compared to local varieties. Nevertheless the variety (Beliouni) is the variety most productive compared to other local varieties. Positive correlations were observed between net photosynthesis and production of dry matter. And a significant effect stress and genotype was revealed in the second test, our results show that the water deficit causes a decrease in the relative water content and osmotic potential TRE (Po) of all varieties, which was adjusted by an accumulation of soluble sugars and proline. This accumulation of osmoticums was very important, very well marked among varieties under stress. Concerning the molecular approach and the genetic association between genotypic and phenotypic variation. The results of this section have shown that phenotypic variation are highly significant, as revealed by a principal component analysis, describing 74% of total variation introduced by two axes ; CP1 and CP2. The hierarchical classification (cluster) show the distribution of genotypes according to their phenotypic variation, based on their origins. For association analysis, the results show that the markers used are significantly associated with the traits studied. The majority of these studied markers were significantly associated with the traits studied, located on chromosome 4B. For productivity, three significant SSR markers were detected respectively associated: (WMS149 ($p < 0.01$), WMS30_2 ($p < 0.05$), WMC177_2 ($p < 0.05$) respectively with 68.94%, 99.46% and 49.74% of phenotypic variation, located on chromosome 4B, 3A and 2A. Also, the hypothesis of association of SSR with heading date (HD) was tested by the GLM (General Linear Model), two SSR markers were found significantly associated with HD they are: (WMS6 ($p < 0.01$) located on chromosome 4B, with 96.84% of phenotypic variation, and WMC445 ($p < 0.05$) on chromosome 5A with 32.46% of phenotypic variation.

Our results also reveal a significant allelic diversity is characterized by high values of polymorphism information content (PIC), the mean value obtained for all primers was 74%, the highest ones were obtained for WMC177 and WMC78 markers with (94% and 93%), respectively, this is in agreement with the large number of alleles detected by these markers, these results reinforces and justify the choice to use these primers association analysis in our durum wheat varieties.

Key words: *Triticum durum* Desf, water deficit, adaptation, Net Photosynthesis, WUE, R. stomatal, RWC, osmolytes, association genetic, SSR and PIC.

SSR (Simple Repeat Sequence

Belioni

HPMs

%

AFD

Cluster-

:

%49.74 %99.46 ,%68.94 (WMS149 (p<0.01), WMS30_2) (p<0.05), WMC177_2 (p<0.05)
WMS6) A2 B, 3A4
A5 B4 (WMC445(p<0.05) ((p<0.01
, %74 , PIC
, (%93 % 94) 78WMC 177WMC

:

LISTE DES FIGURES

Figure.1 Demande nationale toutes céréales confondues(Collection études sectorielles, 2004).....	05
Figure.2 : Evolution des quantités importées des blés (tendre et dur).(En Millions de dollars).....	07
Figure. 3 Localisation des zones céréalières en Algérie. Source : www.lexilogo.com	07
Figure.4 Origine génétique du blé dur (<i>Triticum durum</i> Desf) (Croston et Williams, 1981).....	09
Figure.5 Le grain de blé	11
Figure. 6 : Classification des protéines de réserve chez le blé d'après Osborne (1906) et Shewry et al. (1986).....	12
Figure.7 Représentation générale de la réponse au stress chez les plantes (Wang et al, 2003).....	19
Figure.8 Comparaison de différentes méthodes d'association phénotype-génotype (adapté de Flint – Garcia et al, 2003)	21
Figure.9 principe de la technique SSR.....	25
Figure. 10 Appareils et méthodes utilisées pour réaliser les mesures physiologiques, biochimiques et agronomiques.....	30
Figure. 11 : Diagramme ombrothermique de la campagne 2005-2006.....	33
Figure. 12 Pluviométrie moyenne (mm) sur 25 ans (1970/1971 à 1994/1995).....	33
Figure. 13 Photos. Essai en conditions contrôlées.....	35
Figure. 14 Test de qualité de l'ADN des variétés de blé dur étudiées.....	43
Figure. 15 Principe de la PCR (d'après [Swynghedauw, 2001])	45
Figure. 16 Révélation du polymorphisme des microsatellites par PCR « ciblée ». Grâce aux amorces spécifiques de locus(3 locus SSR en multiplexage	48
Figure. 17 : Variation de la photosynthèse nette en ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{S}^{-2}$) sous cinq niveaux de stress hydrique	56
Figure.18 Variation de la résistance stomatique sous cinq niveaux d'alimentation hydrique.....	57
Figure.19 Variation du taux de chlorophylle sous différents niveaux de stress hydrique	61
Figure. 20 Relation entre le taux de chlorophylles et la photosynthèse nette Pn	62
Figure. 21 Relation entre la photosynthèse nette Pn et la matière sèche	62
Figure. 22 Relation entre l'efficacité de l'eau utilisée WUE et la photosynthèse nette PN ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{S}^{-2}$)	64
Figure. 23 Caractères phénologiques chez les variétés étudiées	67
Figure. 24 Classement des variétés selon la longueur du cycle à l'épiaison	68
Figure. 25 Variation du rendement en grains chez les génotypes étudiés	78
Figure. 26 Variation du rendement en biomasse chez les génotypes étudiés	78
Figure. 27 Indice de récolte chez l'ensemble des variétés étudiées SI : irrigué SII : pluvial	80
Figure. 28 Diagramme électrophorétique des cultivars étudiés face au stress hydrique	89
Figure. 29 Classification hiérarchique des protéines de réserves (gluténines) chez les Génotypes étudiés (en condition pluvial et irrigué).....	90
Figure. 30 Histogramme des valeurs propres en fonctions des rangs des axes principaux pour l'ensemble des variables et chez l'ensemble de variétés étudiées.	91
Figure. 31 cercle des corrélations entre les différentes variables étudiées	93
Figure. 32 représentation graphique des individus (variétés) dans le plan 1-2.....	93
Figure. 33 représentation graphique des variables et des individus dans le plan 1-2	95
Figure.34 : Projections des génotypes sur le plan F1-F2 issu de l'analyse de la composante principale (ACP) des Paramètres utilisés. Les génotypes sont identifiés selon leurs provenances.	99
Figure.35 Analyse factorielle discriminante AFD basées sur leurs régions d'origines.....	101
Figure. 36 : Classification hiérarchique (méthode de UPGMA) entre les variétés basées sur les distances euclidiennes pour l'origine géographique	102
Figure.37 Indices $\ln P(D)$ et K calculés afin de déterminer le nombre de populations (K) le plus probable.....	104
Figure. 38 : Structuration des individus par population suivant la méthode de Pristchard (Pristchard et al.,2000) ..	104
Figure. 39 Analyse moléculaire inter et entre population selon les régions	112
Figure.40 Dendrogramme des génotypes étudiés basé sur leurs provenances	113

LISTE DES TABLEAUX

Tableau.1 Production mondiale de blé (en Tonnes) (FAO, 2006).....	05
Tableau.2 Les importations de blé (Millions de tonnes) dans le monde	08
Tableau. 3 Comparaisons entre les marqueurs RFLP, AFLP et SSR	26
Tableau. 4 Origine des variétés étudiées	28
Tableau. 5 Poids moléculaire des protéines de références (Kit).....	41
Tableau . 6 Description des SSR loci utilisés	44
Tableau. 7 Analyse de la variance des paramètres associés à l'état hydrique de la plante la photosynthèse nette (P_n), Transpiration (T) et la production en matière sèche (MS).....	58
Tableau. 8 Effet du stress hydrique sur la transpiration en ($\text{mmol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)	61
Tableau. 9 variations de la hauteur de la plante chez l'ensemble des variétés étudiées	68
Tableau. 10 Comparaison statistique (MANOVA) de la hauteur du chaume mesurées chez les variétés de blé dur étudiées dans les deux sites irrigué et pluvial.....	70
Tableau. 11 Résultats de l'ANOVA de la comparaison entre les variétés étudiées pour les paramètres morphologiques.....	70
Tableau. 12 Comparaison statistique (test t de Student) des composantes du rendement, obtenus chez les variétés étudiées des deux traitements (NT/m^2 , NP/m^2 , NE/m^2)	74
Tableau. 13 Comparaison statistique (test t de Student) des composantes du rendement (Ng/E et PMG), obtenus chez les variétés étudiées des deux traitements (Irrigué et non irrigué).....	77
Tableau. 14 Comparaison statistique (test t de Student) des paramètres physiologiques, obtenus chez les variétés étudiées des deux traitements (Irrigué et non irrigué).....	83
Tableau. 15 analyse de variance pour l'ensemble des variétés et pour les paramètres physiologiques	83
Tableau. 16 Comparaison statistique (test t de Student) des paramètres biochimiques, obtenus chez les variétés étudiées des deux traitements	86
Tableau. 17 analyse de variance pour l'ensemble des variétés et pour les paramètres biochimiques	86
Tableau. 18 Valeurs maximales et minimales, moyennes, etendu critique et coefficient de variation des caractères quantitatifs étudiés	97
Tableau. 19 matrice de corrélation entre les variables étudiées	98
Tableau. 20 corrélations des marqueurs (R^2) avec les différents caractères étudiés	107
Tableau. 21 Les fréquences alléliques des SSR étudiés, nombre d'allèles, gene diversité l': Hétérozygotie et PIC: Contenu informatif du polymorphisme.	110

LISTE DES ANNEXES

Annexe. 1 . Doses et calendrier d'irrigation (ITGC ,1999)	
Annexe. 2 Réactif de Bradford	
Annexe. 3 Solutions utilisées dans l'extraction des gluténines	
Annexe. 4 Solution mère de de Coomassie R250	
Annexe. 5 ANOVA ; Analyse de la variance des paramètres phenologiques	
Annexe. 6 Comparaison statistique (test t de Student) des différents paramètres morphologiques obtenus chez les variétés étudiées des deux traitements (irrigué et non irrigué)	
Annexe. 7 Classement et regroupements des groupes significativement différents chez les variétés étudiées et entre les deux sites (irrigué et non irrigué).pour la surface foliaire (cm^2)	
Annexe. 8 matrices de corrélation des variables chez les variétés étudiées	
Annexe. 9 Résultats de l'ACP des quatre premiers axes, obtenus pour l'ensemble des caractéristiques mesurées sur les six variétés de blé dur étudiées	
Annexe. 10 Etude des variables avec les quatre premières composantes principales.	
Annexe. 11 Présentation des bandes révélées chez les grains des cultivars de blé dur Étudiés.	
Annexe. 12 Valeurs propres et représentation de la variation par les premières composantes Principales (ACP) définies par six variables de 40 variétés de blé dur	

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ACP : Analyse en composantes principales
ADN : Acide Désoxyribonucléique
AFD: Analyse Factorielle Discriminante
AFLP: *Amplified Fragment Length Polymorphism*
AMOVA : Analyse Moléculaire de la Variance
Biom : Rendement en biomasse aérienne
CHA : classification hiérarchique ascendante
cM: centiMorgan
CIC : Conseil Internationale des Céréales
dNTP: désoxyribonucléotides Triphosphates
FPM : gluténines à faible poids moléculaire
GLM : General Linear Model
GIEC : Groupe d'experts Intergouvernemental sur l'Evolution du Climat
H.P : hauteur de la plante
HPM : gluténines a haut poids moléculaire
ICARDA : Centre Internationale de la Recherche Agronomique pour les zones Arides
ITGC : Institut techniques des Grandes Cultures
L.E: longueur de l'épi
lab : labels
LB : longueur de la barbe
LCE : longueur du col de l'épi
LEA: Late-Embryogenesis-Abundant protéines
Len : Longueur
Loc: location
NE/m² : Nombre d'épi par mètre
NG/E : Nombre de grains par épi
NP /m² : Nombre de plants par mètre
NT/m² : Nombre de talles par mètre carré
PCR : Polymerase Chain Reaction
PIC : Contenu Informatif du Polymorphisme
PMG : Poids de mille grains
Pn: Photosynthèse nette
Po : potentiel osmotique
Ps. product size
QTL : Quantitative Trait Loci(locus à effets quantitatifs)
Rdt .G : Rendement en grains
RFLP : Restriction Fragment Length Polymorphism (Polymorphisme de longueur des fragments de restriction)
SAU : Surface Agricole Utile
SDS : Sodium Dodécyl Sulfate
SF : surface foliaire
SPAD : Soil and Plant Analyzer Development
SSR: *Simple Sequence Repeat* (Répétitions de séquences simples)
TRE : Teneur en eau Relative
UPGMA : Unweighted Pair Groups Method of Analysis),
WMC : wheat microsatellite consortium
WUE : Water Use Efficiency. Efficacité de l'eau utilisée

SOMMAIRE

Remerciements	
Résumé	
Abstract	
Liste des figures	
Liste des Tableaux	
Liste des Annexes	
Liste des abréviations	
Introduction générale : Contexte de l'étude et présentation des objectifs	01

CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

1. production et importance du blé	04
1.1 Le blé dans le contexte international	04
1.2 Le blé dans le contexte national	04
1.3 Importation des blés en Algérie	06
1.4. Historique, origine et filiation génétique du blé dur	09
1.5 . Composition du grain du blé	09
1.6. Classification et composition des protéines du grain	13
1.6.1 Classification des protéines de réserve du blé	13
2. Sécheresse et ses conséquences sur le fonctionnement et l'adaptation des plantes	14
2-1 Définition de la sécheresse	14
2.2. Réponse physiologique de tolérance au déficit hydrique	15
2.3. Expression des gènes lors d'un stress hydrique	16
2.3.1 Production d'osmoprotectants	16
2.3.2. Production de LEA	17
2.4. Régulation des gènes lors du stress hydrique	17
3. Génétique d'Association comme approche de détection de la variation génotypique	20
4. Marqueurs moléculaires	22
4.1. La « RFLP » Restriction Fragment Length Polymorphism	23
4.2. L'AFLP ou Amplified Fragment Length Polymorphisme	23
4.3. Les microsatellites ou SSR (Single Sequence Repeats)	24

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

Introduction	27
I. Expérimentation 1 Détermination et évaluation des traits physiologiques, Photosynthèse et paramètres associés liés à la réponse des variétés de blé dur aux conditions limitantes d'eau	
1.1 Conduite de l'essai	29
2. Expérimentation. 2 Détermination et évaluation des traits biochimiques, paramètres liés à l'état hydrique de la plante et le rendement et ses composantes.	
2.1 Présentation de la région d'étude	31
2.2 Mise en place de l'essai	31
2.3 Mesures et analyses effectuées au cours du développement de la plante	32
2.3.1 Caractères phénologiques	32
2.3.2 Paramètres morphologiques	32
2.3.3 Rendement et composantes du rendement	32

2.3.4 Paramètres physiologiques	32
2.3.5 Paramètres biochimiques	32
3. Expérimentation. 3 Étude de la variation phénotypique et génotypique, et association entre marqueur et phénotype	34
4. Dispositifs et principes des méthodes utilisées.....	35
4.1. Paramètres physiologiques	35
4.1.1 Mesure de la photosynthèse nette (Pn) et paramètres associés	35
4.1.2 Mesure de la chlorophylle	35
4.1.3 Efficacité de l'utilisation de l'eau	36
4.1.4 Le potentiel osmotique	36
4.2. Paramètres liés à l'état hydrique de la plante	36
4.2.1 La teneur relative en eau	36
4.2.2. Taux de déperdition d'eau	37
4.3. Paramètres biochimiques	37
4.3.1. Dosage des sucres solubles	37
4.3.2. Dosage de la proline	37
4.3.3. Dosage des protéines totales.....	38
4.3.4. Electrophorèse des protéines de réserves (glutenines).....	38
i) Principe de l'électrophorèse.....	39
ii) Extraction des gluténines HPM et FPM	39
iii) Révélation des gels	40
4.4. Rendement et ses composantes	42
5. Marquage moléculaire par les microsatellites SSR.....	42
5.1 Extraction et quantification de l'ADN.....	42
5.2 Marqueurs microsatellites utilisés	43
5.3 Réaction d'amplification en chaîne (PCR) de l'ADN microsatellite.....	45
5.4 Migration sur séquenceur.....	46
6- Méthodes d'analyse statistique	49
6.1 Traits phénotypiques.....	49
6. 2 Analyses statistiques et moléculaires des données	50
6. 2.1 Etude d'association entre phénotype et génotype.....	52
6. 2.2 Diversité génétique	52
6. 2.3 Isolement par la distance (test de Mantel).....	52
6. 2.4 test AMOVA (Analysis of Molecular Variance).....	53

CHAPITRE III . RESULTATS ET DISCUSSION

Introduction	54
---------------------------	-----------

1. Expérimentation.1 Détermination et évaluation des traits physiologiques, Photosynthèse et paramètres associés liés à la réponse des variétés de blé dur aux conditions limitantes d'eau

1.1 La photosynthèse nette (Pn)	55
1.2 la résistance stomatique (Rs).....	55
1.3 la Transpiration (T)	59
1.4 Le taux de chlorophylle.....	59

1.5 La matière sèche MS	60
1.6 L'efficacité de l'utilisation d'eau	63
2. Experimentation. 2 Détermination et évaluation des traits biochimiques, des paramètres liés à l'état hydrique de la plante et le rendement et ses composantes	
2.1. Caractères phénologiques.....	65
2.2 Paramètres morphologiques.....	66
2.3. Rendement et composantes du rendement.....	72
2.3.1. Nombre de talles (NT/m ²), nombre de plants (NP /m ²) et Nombre d'épi par mètre carré (NE/m ²).....	72
2.3.2. Nombre de grains par épi (NG/E) et le poids de mille grains	75
2.3.3. Le rendement en grains (Rdt .G) et en biomasse aérienne	79
2.3.4 Indice de récolte (IR)	79
2.4. Paramètres physiologiques.....	80
2.5. Paramètres biochimiques.....	84
2.6 Analyse en composantes principales de l'ensemble des variables étudiées	90
3.Experimentation. 3. Étude de la variation phénotypique et génotypique , et association entre marqueur et phénotype.	95
3.1 Période d'épiaison	95
3.2 Hauteur du chaume	96
3.3 rendements et ses composantes	97
3.4 Signification des deux premiers axes de l'ACP.....	99
3.5 Classification ascendante hiérarchique et Analyse factorielle discriminante AFD.....	100
3.6 Structuration génétique	103
3.7 Association entre les marqueurs moléculaires et phénotypes.....	105
3.7.1 La date d'épiaison (E)	106
3.7.2 Rendements et composantes du rendement	107
3.7.3 Traits morphologiques (Hauteur de la plante).....	108
3.8 Diversité génétique et caractérisation des marqueurs SSR.....	110
3.9 Analyse de la variance moléculaire (AMOVA).....	112
3.10 Test de Mantel.....	112
Conclusion générale et perspectives	114
Références bibliographiques	118
Annexes	

Introduction Générale

Introduction

L'évolution du climat est marquée par des changements importants au niveau planétaire. Parmi ces changements, on note la variation de la température et de la pluviométrie. La fin du siècle passé a connu une augmentation de température de l'ordre de 0.2°C par décennie (Hansen *et al.* 2006). Ces changements ont été liés en grande partie aux activités humaines dont l'émission de gaz à effet de serre (Groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat, GIEC 2007). La vitesse moyenne du réchauffement de l'atmosphère, au cours des cent dernières années, est de $0,74^{\circ}\text{C}/\text{siècle}$. Ces changements vont se poursuivre et les conclusions du Groupe d'experts Intergouvernemental sur l'Evolution du Climat (GIEC), exposées dans son 4ème rapport publié en 2007 ne laissent plus de doute quant au sens de cette évolution allant vers un réchauffement qui pourrait être compris entre $+1,4$ à $+6,4^{\circ}\text{C}$ d'ici 2100. Par conséquent la production des cultures pluviales et particulièrement les céréales sera variable au cours des années.

En Algérie, la sécurité alimentaire des populations dépend en très grande partie de céréales dont principalement le blé. La culture du blé dépend essentiellement de la pluviométrie naturelle. La production du blé est cependant très fortement tributaire des variations climatiques locales et interannuelles. Au vu des prévisions et des incertitudes sur l'évolution future du climat, la compréhension des caractères biologiques complexes qui déterminent l'adaptation du blé au climat, est une perspective intéressante, qui pourrait contribuer à la gestion de l'impact du changement climatique. Plusieurs paramètres qu'ils soient physiologiques (photosynthèse, conductance stomatique, teneur en chlorophylle, potentiel hydrique, etc.), biochimiques, ou agronomiques sont utilisés comme des indicateurs pour élucider l'effet d'un stress hydrique et l'état physiologique de la plante.

Bien que la sélection classique des céréales, ait obtenu des résultats encourageants elle ne parvient plus aujourd'hui à évoluer aussi rapidement. L'amélioration du blé porte maintenant sur des caractères très complexes, présentant en majorité une distribution continue (Maccaferri, *et al.*, 2006). Parmi les nouvelles méthodologies permettant d'étudier de tels traits, l'utilisation de méthodes d'association phénotype/genotype (Ibrokhim *et al.*, 2008), 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. . 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 microsattellites hautement polymorphes ont été ordonnés de manière précise (en moyenne, 1 tous les 1.6 cM) (Dib et al., 1996). Ainsi que le degré de polymorphisme élevé des microsattellites est fortement apprécié pour les études d'association génétique ou, pour la cartographie de gènes impliqués dans La tolérance aux stress abiotiques.

L'introduction des variétés améliorées dans les programmes de croisement dans la zone méditerranéenne avec les variétés locales (évolués à travers des milliers d'années dans une multitude d'environnements, ces variétés ont développé des modèles abondants de la variation et représenteraient un réservoir en grande partie inexploitée des gènes utiles pour l'adaptation aux stressés biotiques et abiotiques) amènera à une meilleure compréhension du déterminisme génétique et physiologique de la réponse au manque d'eau et par conséquent améliorer la tolérance à la sécheresse chez le blé.

Dans ce contexte, notre travail consiste à poursuivre les recherches initiées sur le blé dur, afin d'approfondir les connaissances sur les réponses physiologiques, biochimiques agronomiques et génétique. Pour atteindre nos objectifs, trois expérimentations ont été réalisées pour rechercher l'effet du dessèchement du sol sur les relations hydriques du blé, sur la croissance végétative ainsi que sur l'efficience d'utilisation de l'eau. En plus de ces paramètres physiologiques, d'autres à caractère biochimique et agronomique sont analysés en termes de comparer leur effet sur le rendement et ses composantes. Ce travail consiste aussi en l'analyse du déterminisme génétique de la variation phénotypique. Ces études ont pour but d'améliorer nos connaissances sur le sujet et de permettre d'identifier des critères de sélection pour le choix de géotypes plus performants et mieux adaptés à leur environnement. Afin de rechercher les caractères les plus pertinents pour une étude génétique et moléculaire de la tolérance à la sécheresse chez le blé dur , le memoire de la thèse est structuré en quatre parties principales.

La **partie 1** est une synthèse bibliographique.

Cette étude porte sur les mécanismes de réponses moléculaires, physiologiques, biochimiques et agronomiques des cereales au stress hydrique Cette partie bibliographique est divisée en quatre chapitres.

- Le premier chapitre présente les caractéristiques botaniques de l'espèce étudiée.
- Le second chapitre traite la sécheresse et ses conséquences. Après avoir décrit les relations de l'eau et de la plante, nous avons abordé les mécanismes de régulation physiologique que la

plante met en oeuvre au cours du stress. Puis, les voies métaboliques et les gènes connus dont l'expression est régulée au cours du stress.

- Le troisième chapitre a été consacré aux études d'association génétique et marqueurs moléculaires. Ainsi qu'une présentation détaillée de la technique de genotypage par les microsatellites (SSR) et leurs intérêt dans la sélection variétale.

La **partie 2** détaille les principales méthodologies utilisées, le dispositif expérimental et les techniques utilisées.

La **partie 3** se structure également en trois chapitres. Chaque chapitre présente les résultats produits et leur interprétation.

Chapitre I : Synthèse bibliographique

1. production et importance du blé

1.1 Le blé dans le contexte international

Le blé est la première céréale cultivée au monde. Les surfaces cultivées à travers les continents se mesurent en millions d'hectares et les récoltes en millions de tonnes (FAO, 1999). La production mondiale de blé est de 660 millions de tonnes lors de la campagne 2009-2010, c'est-à-dire près de 100 kg par habitant, pour l'ensemble de la population mondiale. En volume de production, c'est la quatrième culture mondiale derrière la canne à sucre, le maïs et le riz (CIC, 2010). Les cinq premiers pays producteurs de blé mondiaux selon la FAO, 2006 durant les années 2003, 2004 et 2005 sont : La Chine vient au premier rang avec 19 % de la production mondiale, devant l'Inde (11,7 %), les États-Unis (10,7 %), la France (6,5 %), la Russie (5,5 %) et le Canada (4,3 %) (**Tableau.1**).

1.2 Le blé dans le contexte national

En Algérie, la filière céréales et dérivés constitue l'épine dorsale du système alimentaire algérien, et elles fournissent plus de 60% de l'apport calorifique et 75 à 80% de l'apport protéique de la ration alimentaire. C'est ainsi, au cours de la période 2001-2003, les disponibilités des blés représentent un apport équivalent à 1505,5 Kcal/personne/jour, 45,533 gr de protéine /personne/j et 5,43 gr de lipide/personne /J. Cette importance résulte, notamment, de la place prépondérante qu'occupent les céréales et leurs dérivés dans l'alimentation humaine, notamment la semoule (couscous et pâtes) et la farine (pain), comme dans l'alimentation animale. Elle est traduite, au niveau des chiffres, par une demande, toutes céréales confondues, évaluée, en équivalent grains, à environ 228 Kg par an et par habitant, soit environ 177 à 180 Kg par habitant en équivalent semoules et farines. Cette évaluation a pour corollaire, une demande nationale estimée, au niveau global, toutes céréales confondues, à plus de 7 300 000 tonnes par an (**Figure.1**). (Collection études sectorielles, 2004) :

Cependant, la production céréalière en Algérie est fortement dépendante des conditions climatiques. Cela se traduit d'une année à l'autre par des variations importantes de la production et du rendement. Ainsi, le manque de précipitations, mais aussi la mauvaise répartition des pluies pendant l'année expliquent en grande partie la forte variation de la production céréalière.

Tableau.1 Production mondiale de blé (en Tonnes) (FAO, 2006)

Pays	Production 2003	Production 2004	Production 2005	Pays	Production 2003	Production 2004	Production 2005
Chine	86 491 733	91 955 708	97 449 301	Iran	13 439 565	14 568 481	14 307 970
Inde	65 760 800	72 156 200	68 636 900	Argentine	14 562 955	15 959 580	12 574 196
Etats -Unis	63 813 912	58 737 800	58 740 000	Kazakhstan	11 537 400	9 936 932	11 066 000
Russie	34 104 288	45 412 712	47 697 520	Pologne	7 858 160	9 892 482	8 771 434
France	30 474 736	39 692 940	36 885 503	Egypte	6 844 692	7 177 855	8 140 960
Canada	23 552 000	25 860 400	26 775 000	Italie	6 229 453	8 638 721	7 717 129
Australie	26 132 000	21 905 113	25 090 000	Roumanie	2 479 052	7 812 428	7 340 664
Allemagne	19 259 811	25 427 210	23 692 700	Ouzbékistan	5 436 800	5 377 510	5 927 800
Pakistan	19 183 300	19 499 800	21 612 300	Brésil	6 153 500	5 818 846	4 658 790
Turquie	19 008 200	21 000 000	21 500 000	Espagne	6 290 100	7 096 724	4 026 694
Okranie	3 599 300	17 520 200	18 699 200	Autres pays	73 786 136	86 381 923	82 524 470
Royaume-Uni	14 288 000	15 473 000	14 863 000	Total	560 285 893	633 302 565	628 697 531

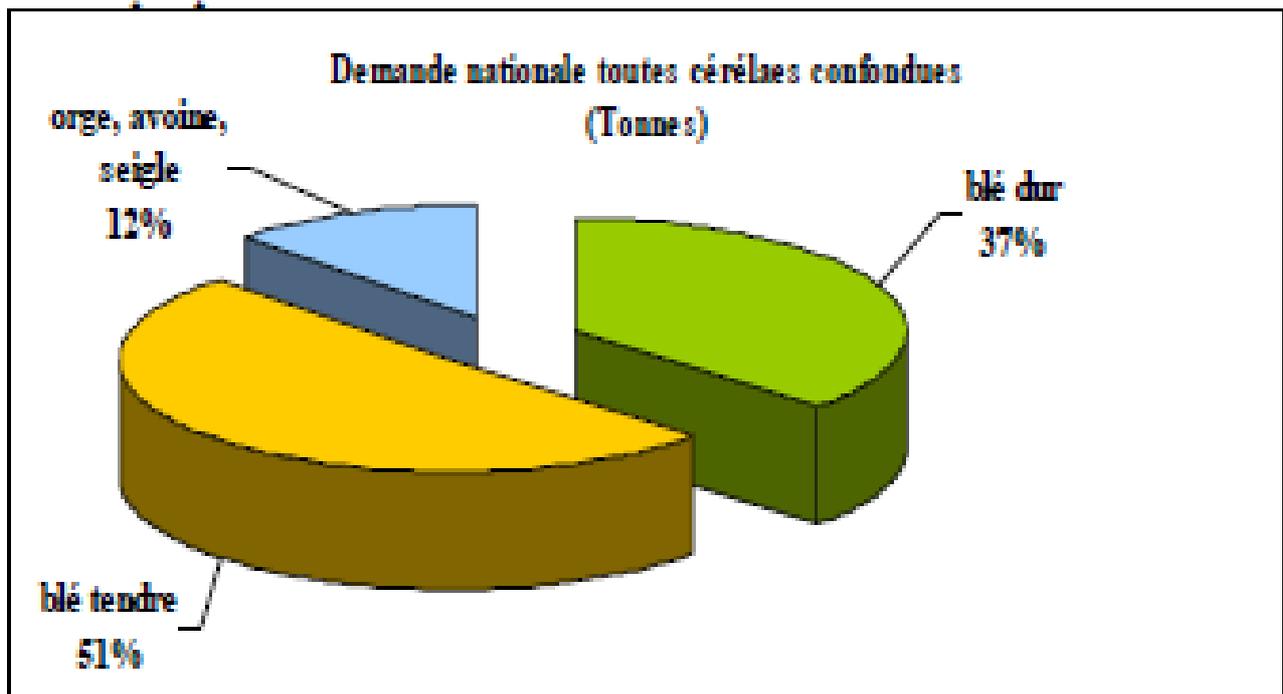


Figure.1 Demande nationale toutes céréales confondues. (Collection études sectorielles, 2004)

1.3 Importation des blés en Algérie

La production nationale ne contribue qu'à 20% de la consommation humaine, donc la différence est comblée par les importations qui peuvent occuper pour certaines années 80% des disponibilités nationales. La quantité moyenne importée durant la dernière décennie dépasse les quatre millions de tonnes par an, pour une facture de 730 millions de dollars (\$ US). (**Figure.2**)

Ainsi que, les importations, qui étaient de l'ordre de 500 000 quintaux par an durant la décennie 1920 (Rouverou P. 1930) , soit 27 kg par personne, sont passées à quatre millions de quintaux en 1960, selon Bencharif et al , 1996 , c'est-à-dire 40 kg par personne. Elles ont atteint 60 millions de quintaux en 2005, pour un coût de 1,5 milliard de dollars américains, soit 43 % de la valeur globale des importations du pays (CNIS,2005) . Cette quantité place l'Algérie parmi les plus gros importateurs mondiaux de céréales, en occupant 65 % du marché africain (Maggie, 2000) (**Tableau.2**). Représentées en majorité par le blé dur (14 millions de quintaux), le blé tendre (26 millions de quintaux), l'orge (16 millions de quintaux) et l'avoine (quatre millions de quintaux), les plus importantes quantités sont achetées à la France (CNIS, 2005). Cette dépendance exogène renforce fatalement la perspective d'insécurité alimentaire et entrave par conséquent le développement du pays.

Au niveau national, La céréaliculture, d'une manière générale, est pratiquée dans la moitié des exploitations agricoles, qui sont au nombre de 588 621 en 2001. Il est aussi possible de préciser les limites des zones géographiques où la céréaliculture domine. A cet effet, on distingue trois zones céréalières (**Figure. 3**) en fonction des quantités de pluie reçues au cours de l'année et des quantités de céréales produites (Chehat, 2005) :

a] Une zone à hautes potentialités (Z1) : on y trouve une pluviométrie moyenne supérieure à 500 mm/an, avec des rendements moyens de 20qx/ha (plaines de l'Algérois et Mitidja, bassin des Issers, vallées de la Soummam et de l'Oued El Kébir, vallée de la Seybouse...). Cette zone couvre une SAU de 400 000 ha dont moins de 20% sont consacrés aux céréales.

b] Une zone à moyennes potentialités (Z2) : caractérisée par une pluviométrie supérieure comprise entre 400 et 500 mm/an, mais sujette à des crises climatiques élevés, les rendements peuvent varier de 5 à 15qx/ha (coteaux de Tlemcen, vallées du Chélif, massif de Médéa...). La zone englobe une SAU de 1 600 000 ha dont moins de la moitié est réservée aux céréales.

c] Une zone à basses potentialités (Z3) : caractérisée par un climat semi-aride et située dans les hauts plateaux de l'Est et de l'Ouest et dans le Sud du Massif des Aurès. La moyenne des précipitations est inférieure à 350 mm par an. Ici, les rendements en grains sont le plus souvent inférieurs à 8qx/ha. La SAU de la zone atteint 4,5 millions d'ha dont près de la moitié est emblavée chaque année en céréales.

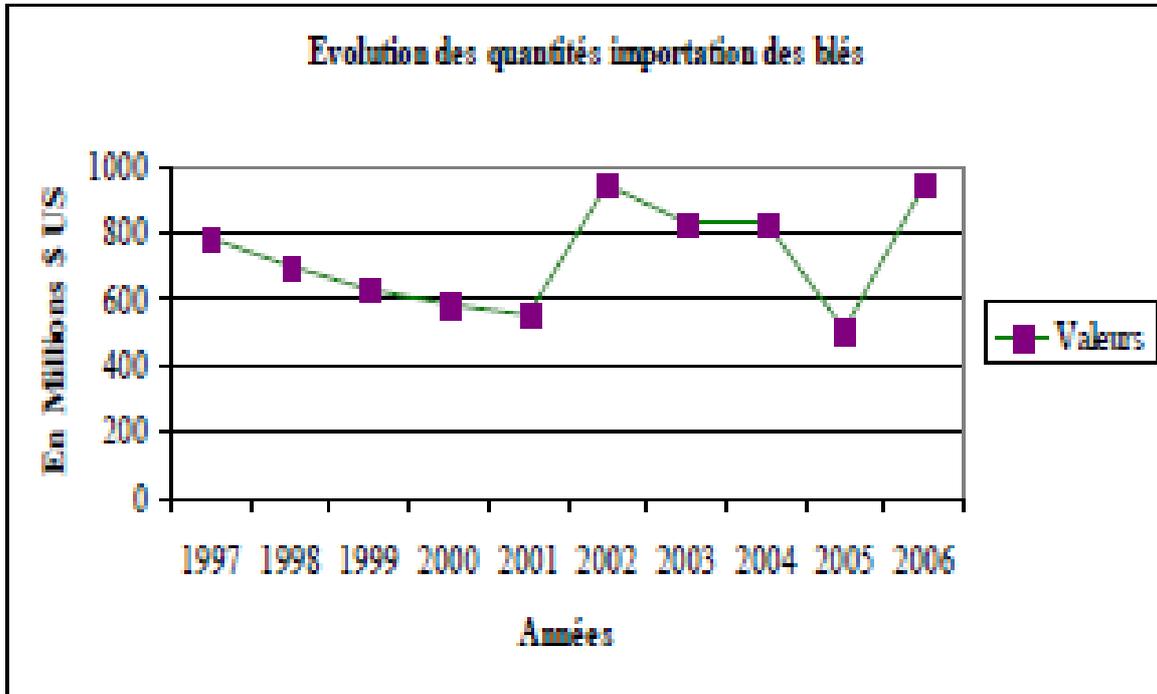


Figure.2 : Evolution des quantités importées des blés (tendre et dur).(En Millions de dollars \$ US)

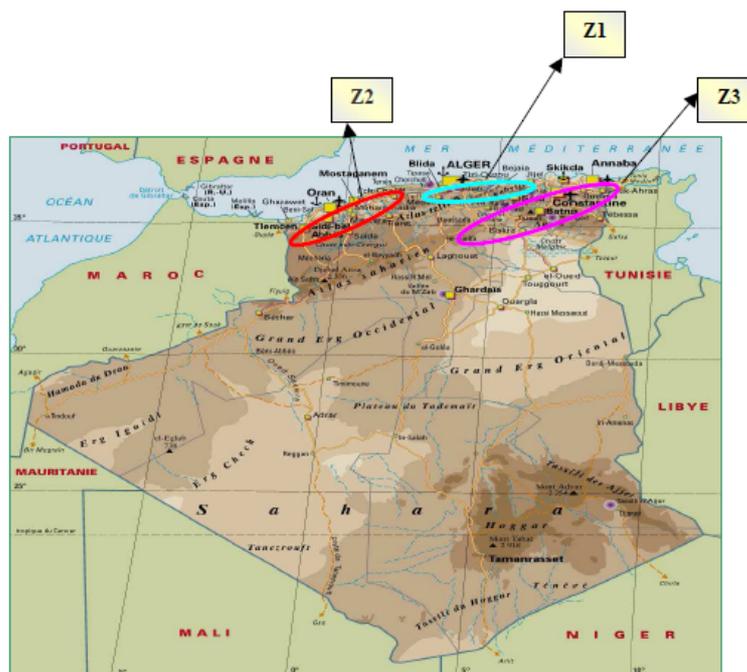


Figure. 3 Localisation des zones céréalières en Algérie. Source : www.lexilogo.com

Tableau.2 Les importations de blé (Millions de tonnes) dans le monde par grandes zones et principaux pays importateurs (tous blés, y compris blé dur) (CIC, 2009)

Année/pays	2007	2008	2009(*)	Année/pays	2007	2008	2009(*)
Europe	7,9	9,3	8,1	- Turquie	2,2	3,6	2
U.E.	6,4	8	7	- Yémen	2	2,6	2
Ex-URSS	5,9	6,4	5,7	Extrême Orient	29,5	32,1	29,6
Russie	0,3	0,1	0,2	Bengladesh	1,4	2,8	2,2
Ukraine	0,3	0,1	0,1	- Chine	0,2	0,5	0,3
Nord et Centre Amérique	9,4	10	8,8	Inde	2	-	-
Cuba	0,9	0,8	0,8	Indonésie	5,2	5,2	5,5
Etats-Unis	2,5	3	1,9	Japon	5,7	5,1	5,5
Mexique	3,1	3,3	3,4	Corée du Sud	3	3,3	3,4
Sud Amérique	12,9	12,5	13	Philippines	2,3	3,2	2,6
Brésil	7,1	6,2	6,4	Pakistan	1,5	3	1
Colombie	1,3	1,5	1,3	Afrique	32,5	38	31,1
Pérou	1,4	1,4	1,5	Algérie	5,8	6,3	5,2
Vénézuela	1,4	1,4	1,7	Egypte	7,6	9,9	8,2
Proche Orient	11,8	27,3	18,8	Maroc	4,1	3,7	1,7
- Iran	0,1	8,9	3,5	Océanie	0,7	0,6	0,8
- Irak	3,5	3,8	3,9	TOTAL MONDE	110,3	135,7	115,6

(*) prévisions

1.4. Historique, origine et filiation génétique du blé dur

Le «**Blé**» est un terme générique qui désigne plusieurs céréales appartenant au genre *Triticum*. Ce sont des plantes annuelles de la famille des graminées ou Poacées, cultivées dans de très nombreux pays. Le blé est une monocotylédone, fait partie des trois grandes céréales avec le maïs et le riz. Les deux espèces les plus cultivées sont le blé dur (*Triticum durum*) et le blé tendre (*Triticum aestivum*). Le blé dur est une espèce connue depuis la plus haute antiquité. Elle appartient au groupe tétraploïde, du genre *Triticum* qui comprend de nombreuses espèces.

Selon Mckee (1968), l'origine génétique du blé dur remonte au croisement entre deux espèces ancestrales *Triticum monococcum* et une graminée sauvage du nom *Aegilops speltaoides*. Le blé dur *Triticum durum*, appelé ainsi en raison de la dureté de son grain. Le nombre chromosomique de base est de $2n = 4x = 28$, hérité du genre *Triticum monococcum* est désigné par A et celui dérivé de l'*Aegilops* est dénommé B, de sorte que *Triticum durum* a une garniture chromosomique désignée par AB (**Figure.4**)

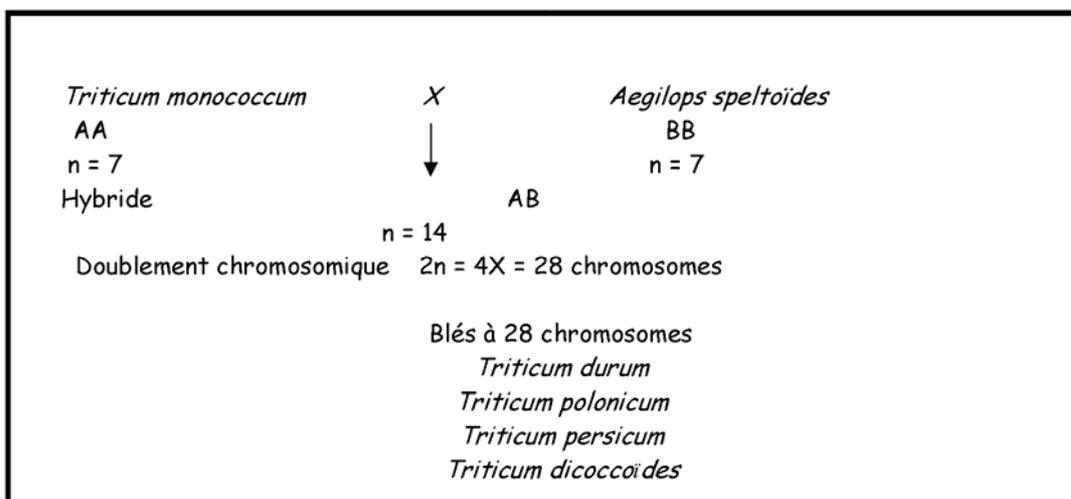


Figure.4 Origine génétique du blé dur (*Triticum durum* Desf) (Croston et Williams, 1981)

1.5 . Composition du grain du blé

Le grain de blé est un caryopse, fruit sec indéhiscant dont les parois sont soudées à celles de la graine. De l'extérieur vers l'intérieur on distingue trois parties principales:

- le **péricarpe** ou **enveloppe**: c'est la pellicule cellulosique qui protège le grain pendant sa formation dans l'épi, au cours de sa conservation et aussi pendant la levée, dans le sol, en limitant l'entrée des moisissures et des bactéries.
- l'**endosperme** ou **amande**: constitue presque tout l'intérieur du grain et se compose principalement de minuscules grains d'amidon. On y trouve l'essentiel des réserves énergétiques qui nourrissent la plantule au moment de la germination (**Figure.4**).
- le **germe** ou **embryon** comprend 2 parties: la plantule (future plante) et le cotylédon (réserve de nourriture très facilement assimilable, destinée à la plantule) qui contient l'essentiel des matières grasses du grain dans le cas des céréales.

Par ordre décroissant d'importance en poids, on trouve parmi les constituants du grain:

- les **éléments principaux**: glucides, lipides et protides.

Les glucides, surtout sous forme d'amidon, de très loin le constituant le plus important des céréales, et les lipides ou matières grasses, constituants majeurs des oléagineux, sont composés de carbone, d'hydrogène et d'oxygène. Les protides présents sous forme de protéines contiennent en plus de l'azote. D'une manière générale, les céréales sont peu riches en protéines, contrairement aux protéagineux (pois, féverole) et aux oléoprotéagineux (colza, tournesol, soja).

- les **éléments secondaires**: vitamines, pigments, minéraux, enzymes.
- l'**eau**: indispensable à la vie du grain, toujours présente même à l'état sec.

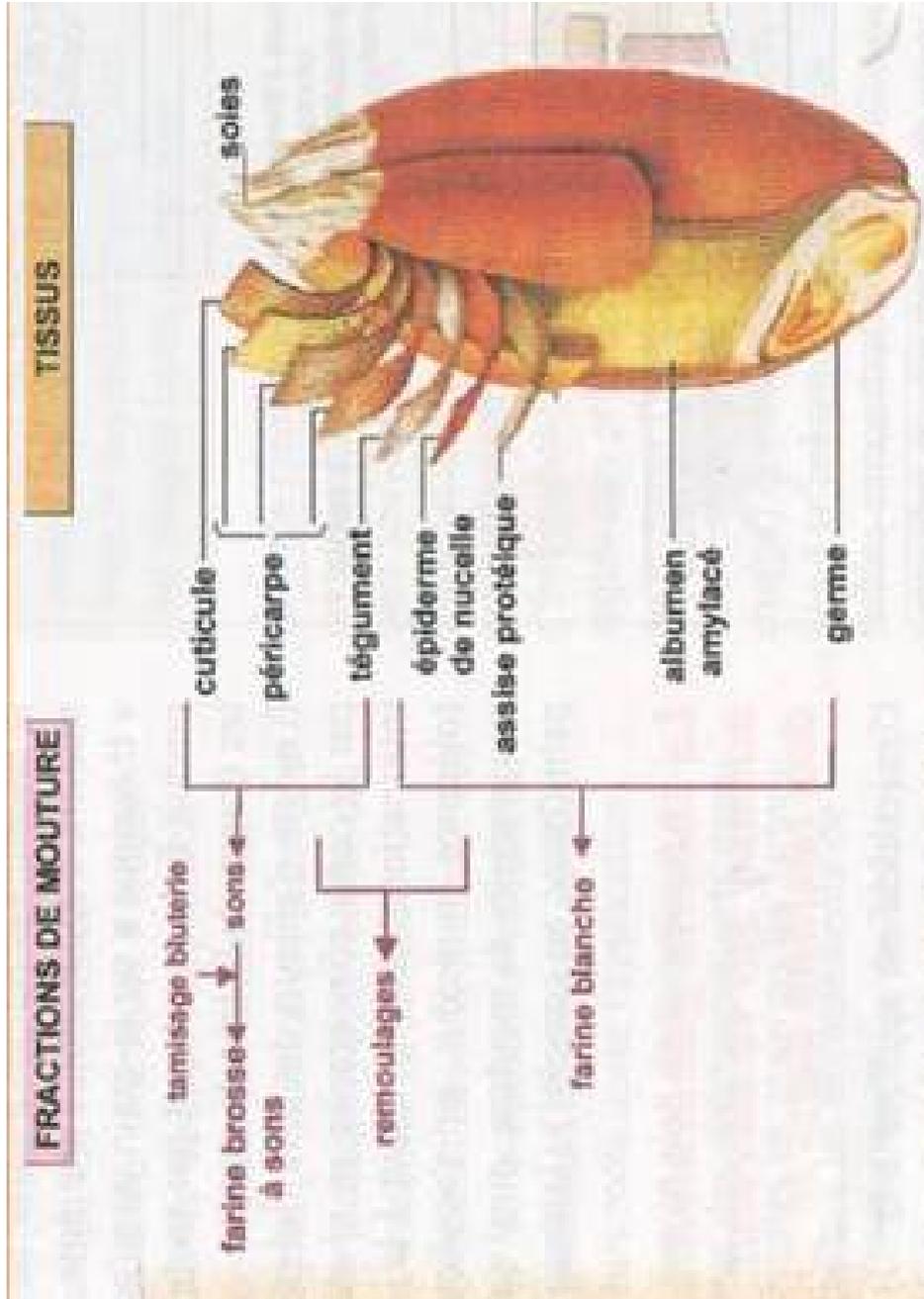


Figure.5 Le grain de blé

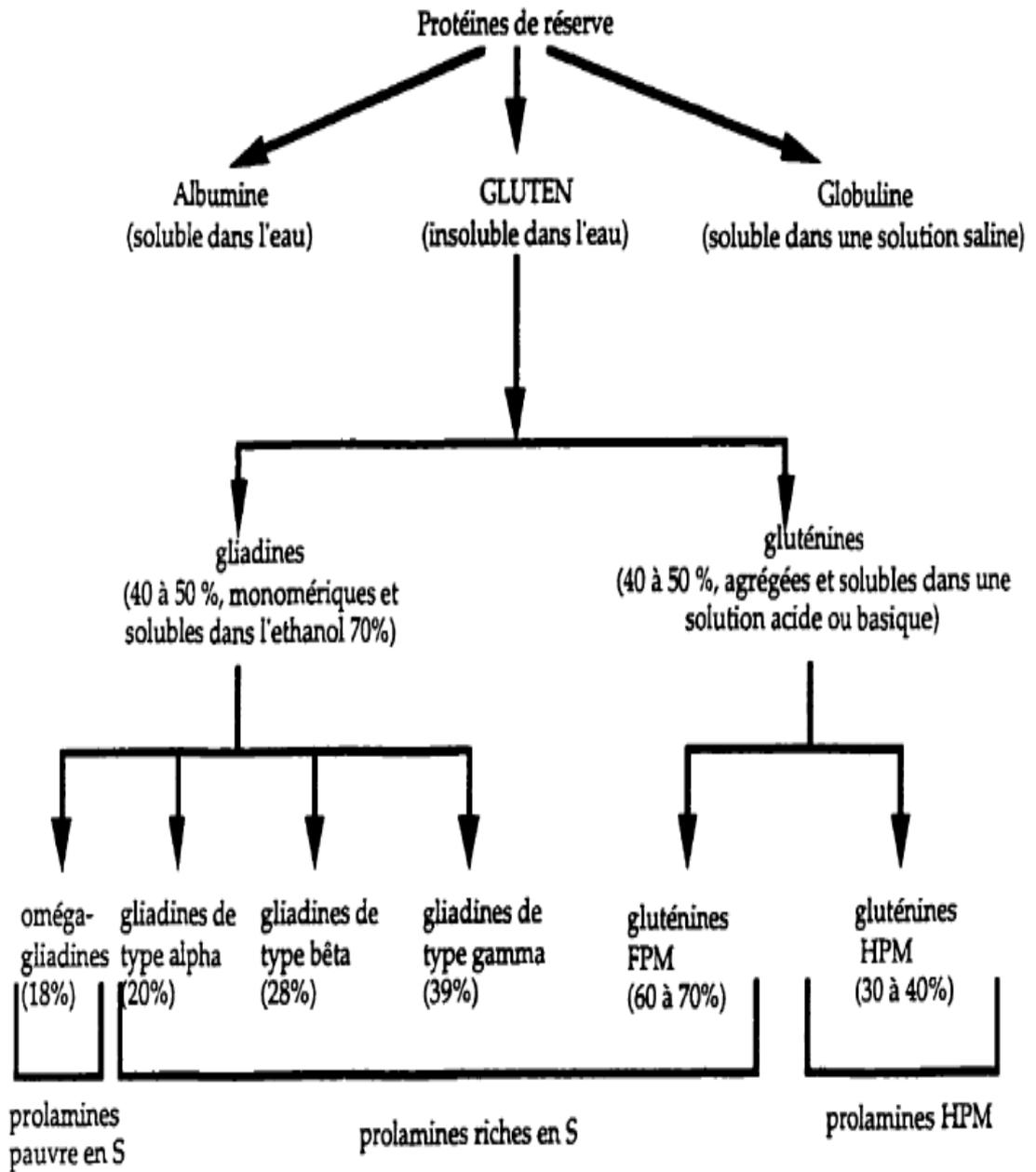


Figure. 6 : Classification des protéines de réserve chez le blé d'après Osborne (1924) et Shewry et al. (1986).

1.6. Classification et composition des protéines du grain

1.6.1 Classification des protéines de réserve du blé

La graine de blé est un organe de réserve contenant de l'amidon, des protéines, des lipides et des sels minéraux. L'amidon est la composante la plus abondante dans la graine. Sa teneur peut atteindre 85% du poids sec de la farine de blé. Celles des protéines varient de 8 à 16% du poids sec de la graine. Ces protéines de réserve sont synthétisées dans une graine, qui agit comme puits pour stocker le surplus d'azote de la plante en protéines.

De plus, les protéines sont accumulées dans les graines matures et forment des agrégats appelés corps d'inclusion ou 'proteins bodies' (Shewry et al., 1995). Grâce à leur abondance et à leur importance alimentaire dans le monde entier, les protéines de réserve ont bénéficié de plusieurs études depuis la première publication de Beccari (1745). La classification de ces protéines de réserve est souvent basée d'une part sur leur solubilité dans l'eau, les solutions salines, dans divers solvants et d'autre part sur leur mobilité dans un gel d'électrophorèse SDS Page (Payne et Corfield, 1979 ; Shewry et Tatham, 1990). D'ailleurs, une extraction séquentielle, à partir de la farine, a permis à Osborne (1924) de regrouper les protéines de réserve en groupes d'albumines, de globulines et de gluten (**Figure. 6**). Les albumines et les globulines représentent un groupe de protéines solubles dans une solution saline et sont présentes dans l'embryon et dans l'endosperme de la graine (MacRitchie, 1985). Ces protéines représentent 10% des protéines totales de la graine, mais elles sont très hétérogènes. On trouve ainsi des enzymes. Des inhibiteurs d'enzymes, des émulsifiants, etc.. Le reste est représenté par le gluten, accumulé uniquement dans l'endosperme. Le gluten est une macro protéine insoluble dans l'eau qui peut atteindre un poids moléculaire de plusieurs millions de dalton formant ainsi une masse viscosélastique résiduelle après plusieurs lavages de la pâte (MacRitchie et al., 1990). Les autres protéines et l'amidon sont éliminés par lavage dans une solution saline. La macromolécule du gluten est, en effet, une agrégation de monomères de gliadines et de polymères de gluténines . Des études plus approfondies des

propriétés physico-chimiques des gliadines et des gluténines ont conduit Shewry et al. (1986) à proposer une nouvelle Classification qui ne recouvre que partiellement celle d'Osborne (1924). Les gliadines et les gluténines sont d'abord regroupées en une grande famille des prolamines (des protéines de réserve riche en proline et glutamine). En effet, la richesse en acides aminés soufrés et le degré de polymérisation des composantes du gluten est les seuls critères de classification au sein de la famille des prolamines. D'ailleurs, le haut degré de polymérisation a permis aux gluténines de HPM d'occuper une place unique, celles des prolamines HPM. Les gluténines à FPM et les gamma, bêta et alpha-gliadines sont réunies dans le groupe de prolamines riche en acides aminés soufrés. Par contre le troisième groupe de prolamines, pauvre en acide aminés soufrées, est représenté par les oméga gliadines (Figure.6).

1.6.1.1. Les protéines du gluten

a. les gliadines

Comme les autres composantes du gluten, les gliadines sont caractérisées par leur insolubilité dans l'eau. Les gliadines représentent de 40 à 50% des protéines de réserve dans la graine de blé (Shewry et al, 1986). Ce sont des protéines monomères solubles dans l'éthanol 70% dont les ponts disulfures sont intramoléculaires (Kasarda, 1989).

L'analyse par électrophorèse a montré que les gliadines forment un groupe de prolamines hautement hétérogène forme de plus de 100 composantes (Anderson et al., 1997; Payne, 1987). Leur polymorphisme est si important qu'il sert de moyen d'identification variétale (Evans et al., 1972).

b. les gluténines

Les gluténines sont des polymères de protéines dont les chaînes polypeptidiques élémentaires, qualifiées de sous-unités de gluténines, sont réunies par des ponts bisulfures intermoléculaires (Shewry et al., 1995). Leur capacité à se Polymériser leur permet d'atteindre un poids moléculaire de plusieurs millions de Dalton. En plus de représenter 40 - 50% des protéines de réserve totale de la graine de blé, elles jouent un rôle déterminant dans la qualité

de la farine de blé (Gupta et al., 1990; Payne et al., 1987; Wrigley et Bietz, 1988). Selon leur mobilité dans un gel SDS-Page, ces gluténines sont regroupées en deux classes de sous unités: une plus mobile, regroupe les gluténines à faible poids moléculaire (FPM), l'autre, moins mobile, est représenté par des gluténines à haut poids moléculaire (H PM).

2. Sécheresse et ses conséquences sur le fonctionnement et l'adaptation des plantes

2-1 Définition de la sécheresse.

La notion de la sécheresse a toujours été assimilée à la notion de stress hydrique. Cependant il existe de nombreuses définitions du terme 'sécheresse. Tout d'abord, elle se réfère toujours à un déficit de pluviométrie et l'on parle de sécheresse au sens météorologique. Actuellement, cette caractérisation météorologique de la sécheresse est essentiellement limitée à la durée des périodes sans pluie.

La sécheresse est définie selon (Wang et al., 2003) comme un déficit hydrique marqué, dont l'origine se trouve essentiellement dans la faiblesse des précipitations sur une période prolongée par rapport à la moyenne des apports observés sur cette période. Lorsque ce déficit de pluviométrie est systématique sur une région donnée, cette région devient une zone aride. Dans ce contexte, une plante tolérante à la sécheresse est une plante qui survit à des situations de contrainte hydrique sévère. Hors de ces régions, la sécheresse peut être considérée comme un phénomène climatique aléatoire qui se caractérise d'avantage par une déviation par rapport à une valeur moyenne de pluviométrie. Dans ce contexte, et pour un agronome, une sécheresse se définit par tout manque d'eau qui ne permet pas aux plantes cultivées d'exprimer le rendement qui serait attendu en situation favorable, ou qui peut affecter la qualité des produits récoltés (Grieu et al, 2008).

La sécheresse en général se traduit chez la plante par une série de modifications qui touchent les caractères morphologiques, physiologiques et biochimiques, à partir du moment où les besoins en eau de plante sont supérieurs aux quantités disponibles .

2.2. Réponse physiologique de tolérance au déficit hydrique

Face au stress hydrique, les plantes déploient différentes stratégies adaptatives. Celles-ci sont souvent le résultat de plusieurs remaniements au niveau morphologique, anatomique, physiologique et moléculaire (Shao *et al.*, 2008; Attia , 2007; Bousba. et al, 2009a). A l'échelle cellulaire, les principaux mécanismes mis en place par la plante lors d'un stress hydrique se résument ainsi :

- Diminution de la croissance traduite au niveau cellulaire par une réduction du nombre de polysomes (Kawaguchi *et al.*, 2004), un ajustement osmotique (Serraj et Sinclair, 2002 ; Fana *et al.*, 2008), une modification de l'extensibilité des parois accompagnée d'un changement au niveau des fonctions des aquaporines (Bramley *et al.*, 2008) et d'une altération du métabolisme du carbone et d'azote (Xu *et al.*, 2005 ; Green *et al.*, 1994).
- Diminution de la photosynthèse, reliée à une augmentation du taux d'acide abscissique (ABA) (Bray, 2002 ; Schachtman *et Goodger*, 2008) et aux dommages dans les thylakoïdes (Tambussia *et al.*, 2000 ; Huseynova *et al.*, 2007). En parallèle, la transpiration diminue (fermeture des stomates) en même temps que l'accumulation des solutés compatibles (Robredo *et al.*, 2007 ; Zhu *et al.*, 2005, Bousba et al, 2006a).
- Activation des mécanismes liés à la tolérance à la sécheresse tels que l'accumulation de LEA (Late Embryogenesis Abundant protéines) (Labhilili *et al.*, 1995), de disaccharides, ainsi que l'activation des enzymes impliquées dans la détoxification (Beck *et al.*, 2007, Ghasempour et al, 2007).

2.3. Expression des gènes lors d'un stress hydrique

L'adaptation des plantes au stress hydrique est conditionnée, entre autres, par la qualité et la quantité des gènes déployés face à ce stress. De nombreux gènes ainsi que leurs produits ont été identifiés. Dans la section suivante, nous nous limitons à deux exemples à savoir la production d'osmoprotectants et de LEA.

2.3.1 Production d'osmoprotectants

Pour maintenir leur pression osmotique en conditions stressantes, les plantes accumulent divers métabolites tels que les acides aminés (proline) (Ashraf & T.McNeilly, 2004; Seki *et al.*, 2007; Bousba et al, 2009b), les composés quaternaires ou amines (glycine bétaine, polyamines), et les sucres ou alcools (tréhalose, mannitol) (Kaur et Gupta, 2005, Ykhlef et al, 2011).

Plusieurs travaux ont montré l'implication de la proline chez le blé lors du stress hydrique (Bajji *et al.*, 2001 ; Nayyar, 2003 ; Shao *et al.*, 2006a ; Shao *et al.*, 2006b, Bousba, 2006b). En effet, la surexpression de Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthetase (*P5CS*), gène codant pour une enzyme clé dans la synthèse de la proline, a induit une tolérance au déficit hydrique chez le blé transgénique (Vendruscolo *et al.*, 2007). Selon la même étude, l'accumulation

spectaculaire de la proline enregistrée en cas de stress semble avoir un rôle plutôt protecteur contre le stress oxydatif que dans l'ajustement osmotique (Rizhsky *et al.* 2004) .

La glycine bêtaïne est une amine quaternaire qui présente un rôle protecteur qui est traduit par la stabilisation de la structure quaternaire des protéines et par l'ajustement de l'équilibre osmotique (Sakamoto et Murata, 2002). La synthèse de la glycine bêtaïne se déroule en deux étapes. La première consiste en une conversion d'une choline en aldéhyde bêtaïque par une choline déshydrogénase codée par le gène *betA* (Lamark *et al.*, 1991). Dans la deuxième étape, l'aldéhyde bêtaïque s'oxyde en glycine bêtaïne sous l'action spécifique de l'aldéhyde bêtaïne déshydrogénase codée par le gène *betB* (Lamark *et al.*, 1991). La transformation de Maïs par le gène *betA* a conféré une meilleure tolérance au stress pour les plantules transgéniques aussi bien au stade germinatif que post germinatif (Quan *et al.*, 2004). Le traitement des feuilles de blé tendre par la glycine bêtaïne a protégé la photoinhibition du système PS II engendrée par le stress hydrique (Ma *et al.*, 2006).

2.3.2. Production de LEA

Les Late-Embryogenesis-Abundant protéines (LEA) sont un groupe de protéines à faible poids moléculaire (10-30 kDa) riches en Glycine et Lysine (Shao *et al.*, 2005). En réponse à la déshydratation, les LEA sont produites en abondance dans les dernières phases de développement des graines (Nylander *et al.*, 2001). Différents gènes qui codent pour les LEA sont impliqués dans la tolérance au stress hydrique chez le blé dur (Rampino *et al.*, 2006). Parmi ces gènes ; les *pTd27e*, *pTd16*, *pTd25a*, *pTd38* (Labhilili *et al.*, 1995) et *DHN-5* (Brini *et al.*, 2007).

2.4. Régulation des gènes lors du stress hydrique

L'intervention des gènes lors du stress hydrique, fait concourir des cascades de transduction de signaux allant de la perception jusqu'à l'expression des gènes.

2.4.1. Comment la plante perçoit-elle le stress hydrique?

Plusieurs travaux ont montré l'importance des racines dans la perception du déficit hydrique (Wilkinson et Davies, 2002 ; Davies *et al.*, 2002). En effet, Urao *et al.* (1999) ont identifié chez *Arabidopsis thaliana* une protéine membranaire (AtHK1) qui intervient dans la perception du manque d'eau. Suite au changement d'osmolarité causé par la restriction de cet élément vital, cet osmosenseur s'accumule fortement, sous sa forme active, au niveau des membranes racinaires (Urao *et al.*, 2000a). Il semblerait qu'il soit directement relié à une

cascade de transduction du signal, faisant intervenir des MAP-kinases (Urao *et al.*, 2000b). Une chaîne de phosphorylation/déphosphorylation se déclenche, par conséquent, contribuant ainsi à un système d'alarme au sein de la plante. L'augmentation transitoire de Ca^{2+} cytoplasmique et son largage, sous un aspect d'oscillations régulières, constituent un messenger secondaire dans la transduction du signal (Kacperska, 2004; Shi, 2007).

Les protéines kinases dépendantes du calcium (CDPK) jouent également un rôle crucial dans la cascade de transduction mettant la plante en état d'alerte contre le stress hydrique (Christmann *et al.*, 2006). Les CDPKs possèdent une structure caractérisée par un domaine sérine / thréonine qui est fusionné en C-terminal à un domaine calmoduline-like contenant des sites de fixation du calcium (Xiong *et Zhu*, 2001). La surexpression de *OsCPK7* chez le riz entraîne une augmentation de la tolérance au froid, à la sécheresse et au stress salin (Saijo *et al.*, 2000). Récemment, Gu *et al.*, (2008) ont montré chez le riz, l'implication d'une autre famille de protéines dépendantes du calcium dans la transduction du signal suite au stress salin. Il s'agit de calcineurin B-like protéine (CBL) précisément CBL8 codé par le gène *OsCBL8* (Gu *et al.*, 2008). Les MAPK (Mitogen activated protein kinase) sont aussi des médiateurs qui interviennent dans la scène de transduction du signal en cas de déficit hydrique (Ramanjulu *et Bartels*, 2002). Une fois le signal atteint les noyaux des cellules cibles, il en résulte le déclenchement des facteurs de transcription qui régulent l'expression des gènes. Prouvé l'importance d'un autre facteur appartenant à la même famille des leucine zipper. Il s'agit de *HD-START* dont la surexpression entraîne une réduction du nombre de stomates et une modification de l'architecture des racines ce qui confère une meilleure tolérance au stress hydrique chez *Arabidopsis thaliana* et *Nicotiana tabaccum* (Yu *et al.*, 2008). Un autre résultat fructueux a été obtenu après la transformation du riz par *Snac1* (Stress-responsive NAC1), gène membre de la famille de NAC (Hu *et al.*, 2006).

En effet, la surexpression de ce gène a induit une augmentation des taux de germination de 22 à 34 % chez le riz transgénique stressé par rapport aux témoins (Hu *et al.*, 2006). Il est établi, également, que *Snac1* agit sur la fermeture des stomates *via* l'acide abscissique, sans pour autant affecter ni le phénotype ni la productivité de ces plantes (Hu *et al.*, 2006).

A la fin de la cascade de signalisation et suite à l'activation de facteurs de transcription, certains gènes vont être régulés afin de rétablir l'homéostasie cellulaire et contribuer ainsi à la résistance ou à l'adaptation de la plante aux conditions de pénuries d'eau.

Ces gènes codent généralement pour des enzymes impliquées dans la production de molécules osmorégulatrices (**Figure. 7**), des transporteurs(Martre et al, 2002) , des enzymes de détoxification et des chaperonnes.

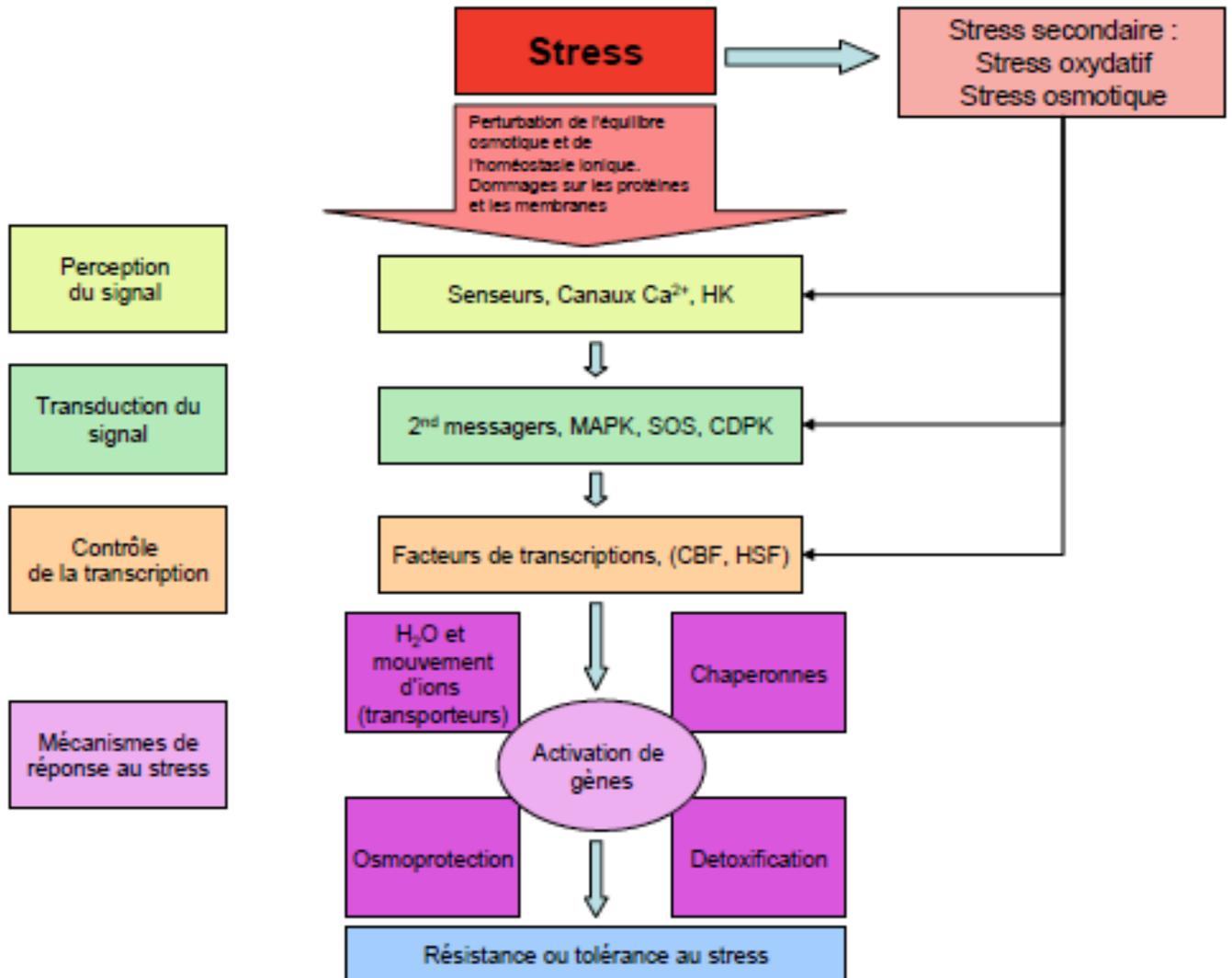


Figure.7 Représentation générale de la réponse aux stress chez les plantes (Wang et al, 2003)

3. Génétique d'Association comme approche de détection de la variation génotypique

L'amélioration génétique sera facilitée chez le blé si des connaissances sont acquises sur le déterminisme génétique de caractères d'intérêt agronomique. Parmi les nouvelles méthodologies permettant d'étudier de tel traits, l'utilisation de méthodes d'association phénotype/génotype au niveau populationnel (Thornsberry et al., 2001) paraît une voie intéressante.

Dans la littérature anglo-saxonne, le terme 'étude d'association' revêt ainsi plusieurs acceptions : "association study", "association mapping", "gene mapping", "LD-mapping" ou encore "fine mapping". Ces notions sont souvent utilisées de manière interchangeable. D'une manière générale, l'"étude d'association" désigne toute approche dont le but est de détecter et/ou de localiser des variants génétiques causaux impliqués dans la variation d'un caractère d'intérêt à l'aide d'un échantillon d'individus pour lesquels l'information généalogique n'est pas exploitable (les relations d'apparentement étant trop "lâches" pour être valorisées). Cette approche a été développée au début des années 1990 à l'origine par la recherche médicale, qui ne dispose pas de populations construites pour identifier les zones du génome impliquées dans le contrôle de maladies génétiques à déterminisme simple ou complexe, la « génétique d'association », également désignée par « Association study » ou « LD mapping », a suscité un intérêt croissant au cours des dernières années dans le domaine de la génétique végétale. En résumé, elle consiste, en alternative au développement de populations entièrement contrôlées en ségrégation et à l'exploitation de la liaison physique entre marqueurs et localisations éventuelles de QTL impliqués dans des caractères agronomiques, à exploiter à partir d'un panel de génotypes les possibilités de recombinaison qui ont pris place en amont de la création de ce matériel, pour établir une corrélation entre un polymorphisme génétique et un caractère d'intérêt.

Chez les plantes, deux approches générales sont utilisées pour identifier les variantes naturelles liées au phénotype. La première est la cartographie de liaison ou *linkage mapping* (Mackay et al. 2009). Cette approche utilise des populations expérimentales (*familles*) constituées à partir de croisements entre un nombre limité de parents (2 généralement). La seconde approche, plus récente, est la cartographie d'association basée sur des populations (ou *population-based association mapping*). Cette dernière utilise des collections de populations diverses, constituées d'individus dont les relations ne sont pas souvent connues *a priori*.

La cartographie d'association basée sur des populations exploite un nombre d'événements de recombinaison davantage plus grand que ce qui peut être obtenu avec n'importe laquelle des populations de cartographie de liaison citées. Ces recombinaisons sont le résultat d'une accumulation au cours de l'histoire évolutive des collections de populations utilisée par la cartographie d'association. Elles conduisent à une résolution supérieure dans la localisation des régions génomiques associées au phénotype. Le nombre d'allèles disponible au sein de ces populations est également plus large que ce qui peut être représenté au sein de familles biparentales (**Figure. 9**) (Yu and Buckler 2006). Ces avantages ont fortement motivés, depuis une décennie, le développement de cette méthodologie chez les plantes.

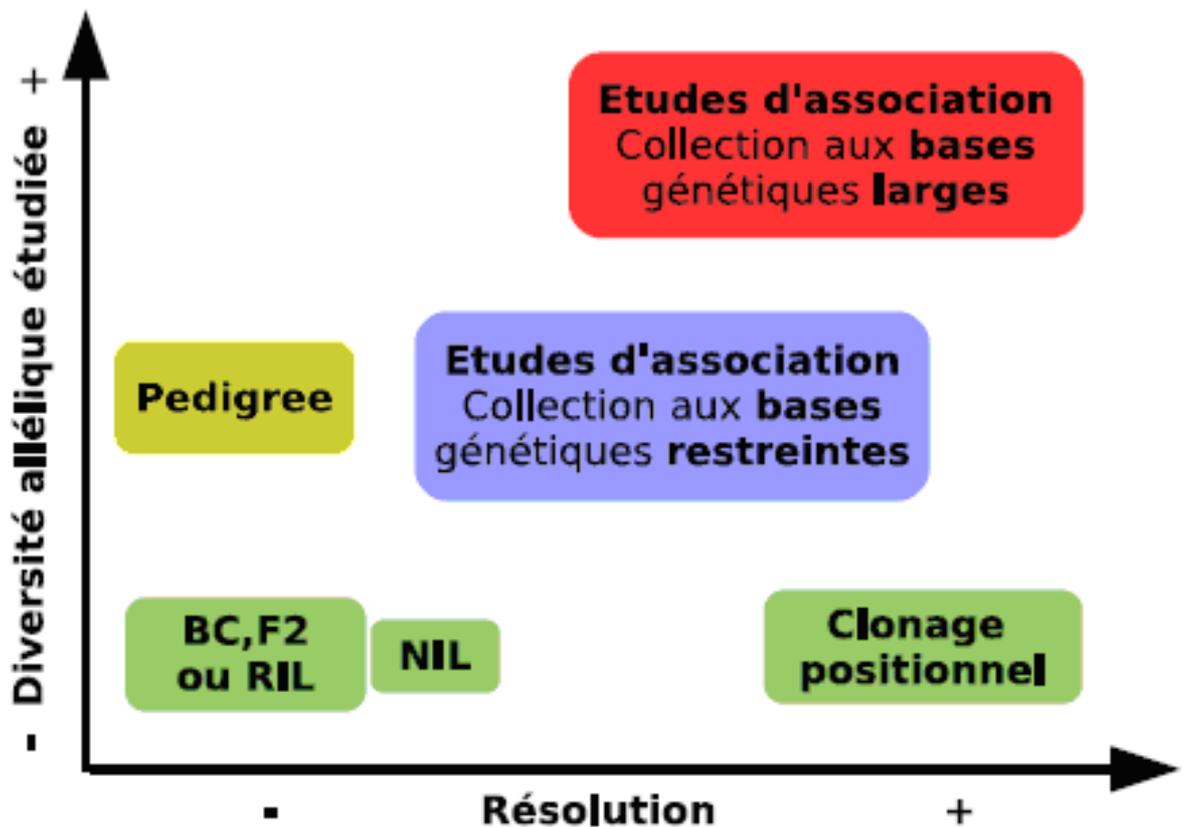


Figure.8 Comparaison de différentes méthodes d'association phénotype-génotype (adapté par Flint – Garcia et al, 2003).

La différence entre les méthodes est illustrée en fonction de : **i**) la résolution (les distances les plus petites sur l'axe correspondent à une localisation plus précise du polymorphisme causal); **ii**) le temps de recherche; et **iii**) le nombre d'allèles par locus que les échantillons peuvent contenir. La cartographie d'association (*association mapping*) est la méthode la plus performante au vu de ces critères.

4. Marqueurs moléculaires

Le blé, aliment de base pour 35% de la population mondiale, a une importance économique majeure. Cependant, les outils d'exploitation de son génome sont très en retard par rapport à d'autres céréales comme le maïs, le riz ou le sorgho. De ce fait, l'amélioration du blé reste aujourd'hui trop lente au regard des défis que l'agriculture doit affronter. Ce retard est dû à la difficulté d'accès à un génome très particulier et complexe. Cependant, l'étude du génome de blé, la détermination et la comparaison de génotypes ne peuvent aujourd'hui être réalisées par séquençage systématique. Comparativement au riz, au sorgho ou au maïs. D'une part, avec 17 milliards de bases, il est de très grande taille (5 fois plus grand que le génome du maïs et 40 fois plus grand que celui du riz). D'autre part, le blé est un organisme polyploïde, c'est-à-dire que chacune de ses cellules possède plusieurs génomes. C'est pourquoi la plupart des gènes existent en plusieurs copies. ainsi et dans le cas du blé dur, deux génomes dits homéologues, dénommés A et B et issus de deux espèces ancestrales différentes, ont été rassemblés au sein de chaque cellule de blé par hybridation naturelle au cours de l'évolution. Malgré l'émergence de nouvelles technologies permettant un séquençage plus rapide et moins cher l'alternative au séquençage choisie par de nombreux laboratoires à travers le monde reste l'utilisation de marqueurs moléculaires. Ces marqueurs sont en effet très précieux car ils permettent de tester rapidement les variétés et de retenir celles qui possèdent les caractéristiques recherchées.

Les marqueurs moléculaires permettent aussi de caractériser un génome de manière fiable, spécifique et rapide. Le marqueur moléculaire y est défini comme « un locus polymorphe » capable de renseigner sur le génotype de l'individu qui le porte et d'informer sur le génotype d'un ou de locus voisins. Le marqueur a une position définie dans le génome et doit idéalement présenter les caractéristiques suivantes :

- Le marqueur doit être polymorphe, c'est-à-dire qu'il doit posséder plus d'un allèle au moins dans la population étudiée. Le marqueur idéal est codominant, ce qui signifie qu'un hétérozygote peut être différencié de l'homozygote au locus en question
- Il est non épistatique, c'est-à-dire que le génotype peut être lu à partir de son phénotype sans influence du génotype des autres locus. Il y a une absence d'interactions intra et inter locus.

- Le marqueur est neutre, une modification des locus marqueurs n'a pas d'autres effets phénotypiques que ceux qui permettent de déterminer son génotype.
- Le génotype peut être inféré à partir du phénotype quel que soit le milieu, un « bon » marqueur moléculaire est donc insensible au milieu.

Dans ce contexte, ce travail de thèse se limitera donc à l'étude des marqueurs moléculaires de type ADN. Ces marqueurs sont disponibles en nombres quasi illimités mais présentent également l'avantage d'être indépendants du stade de développement ou de l'organe analysé, l'ADN étant le même dans tous les tissus. Il existe un nombre croissant de marqueurs moléculaires et de techniques pour mettre en évidence ces derniers, on s'intéressera dans cette étude aux marqueurs moléculaires tels que les RFLP (Restriction Fragment Length polymorphism), les RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), les AFLP (Amplified Fragment Length polymorphism) et les SSR (Simple Sequence Repeat).

4.1. La « **RFLP** » ou *Restriction Fragment Length Polymorphism*

Cette technique repose sur des enzymes de restriction et la variabilité de taille des fragments d'ADN obtenus via ces enzymes de restriction. Une enzyme de restriction coupe l'ADN dans des séquences en palindrome appelées sites de restriction. Le site de restriction est spécifique de l'enzyme qui reconnaît des séquences de 4, 6, 8 ou parfois plus de paires de bases. Un grand nombre de fragments d'ADN peut être obtenu par la digestion d'un génome par une enzyme de restriction. La spécificité d'une enzyme de restriction est telle qu'une variation d'un nucléotide dans la séquence de restriction empêche le clivage du site par l'enzyme. Nous observerons donc un polymorphisme de longueur de fragment en fonction de la présence ou l'absence d'un site de restriction

4.2. L'**AFLP** ou *Amplified Fragment Length Polymorphism*

Combine la technique de la RFLP à la PCR. La RFLP utilise ainsi les enzymes de restriction et l'hybridation d'amorce PCR. L'ADN est clivé par deux enzymes de restriction (exemple Eco RI et Mse I). Des adaptateurs de séquences connues (20pb) sont ajoutés de part et d'autre des fragments d'ADN. Les bouts ajoutés constituent un *template* pour la fixation d'amorces PCR. On amplifie ainsi les fragments d'ADN via PCR. Les conditions sont prévues pour privilégier l'amplification des fragments Eco RI MseI au détriment des fragments Eco RI-Eco RI et MseI-MseI. Dans une deuxième étape dite sélective, on utilisera les mêmes amorces mais prolongées à l'extrémité 3' de quelques nucléotides arbitraires (1 à 3). Cette étape permet de n'amplifier que les fragments complémentaires des bases arbitraires

entraînant une réduction du nombre de fragments amplifiés. Une centaine de fragments sont finalement révélés en gel d'acrylamide après électrophorèse. Ceux-ci correspondent aux fragments dont le polymorphisme provient des sites de restriction mais également des sites d'hybridation des bases arbitraires.

4.3. Les microsatellites ou **SSR** (*Single Sequence Repeats*), les microsatellites ou SSR (*Simple Sequence Repeat*) sont des séquences composées de courts motifs d'ADN (1 à 6 bases) répétés en tandem. Les plus courants sont (A)_n, (TC)_n, (TAT)_n, (GATA)_n, etc. (n varie de quelques unités à plusieurs dizaines). Ce sont des séquences très présentes dans le génome des plantes et des animaux (Toth *et al.*, 2000 ; de Vienne & Santoni, 1998). Les microsatellites de 2 nucléotides sont répartis tous les 30 à 100 kb dans le génome des végétaux supérieurs (Morgante et Olivieri, 1993). Les microsatellites de 4 pb sont plutôt localisés au niveau des centromères et des télomères. On leur attribue un rôle dans la recombinaison méiotique (points chauds de recombinaison). Les variations que l'on peut observer au sein de ces séquences concernent des variations du nombre de répétitions des motifs de base. Les séquences flanquant les motifs répétés permettent de définir les amorces qui seront utilisées pour l'amplification PCR (**Figure. 9**). L'analyse des produits amplifiés s'effectue sur gel d'acrylamide après révélation par coloration au nitrate d'argent ou grâce à un marquage fluorescent des amorces en utilisant des séquenceurs capillaires. L'intérêt des microsatellites est dû à leur fort polymorphisme ainsi qu'à la capacité de semi-automatiser leur analyse et leur hiérarchisation (possibilité de multiplexage par fluorescence).

Si les SSR constituent de bons marqueurs moléculaires (reproductibles, co-dominants et aisés d'utilisation) (**tableau. 3**), leur caractérisation initiale est toutefois assez lourde. En effet, leur identification et leur développement doit passer par l'enrichissement d'une banque génomique en motifs répétés, puis par le clonage et le séquençage de nombreux fragments, et enfin par le développement d'amorces PCR, la mise au point des conditions d'amplification et la sélection des locus polymorphes. Pour contourner ces difficultés, il est possible d'utiliser des microsatellites hétérologues développés sur des espèces phylogénétiquement proches. Une autre possibilité consiste à chercher *in silico* des motifs répétés dans les bases de données comme *Genebank* (de Vienne & Santoni, 1998).

Les marqueurs microsatellites sont fréquemment utilisés en génétique des populations pour des études portant sur la diversité (Eleuch L, *et al*, 2008 ; Lakew B *et al*, 2012 et Bousba *et al*, 2012a) ou la gestion des ressources naturelles et aussi dans la cartographie génétique et la détection de QTLs (Goldstein et Schlotterer, 1999).

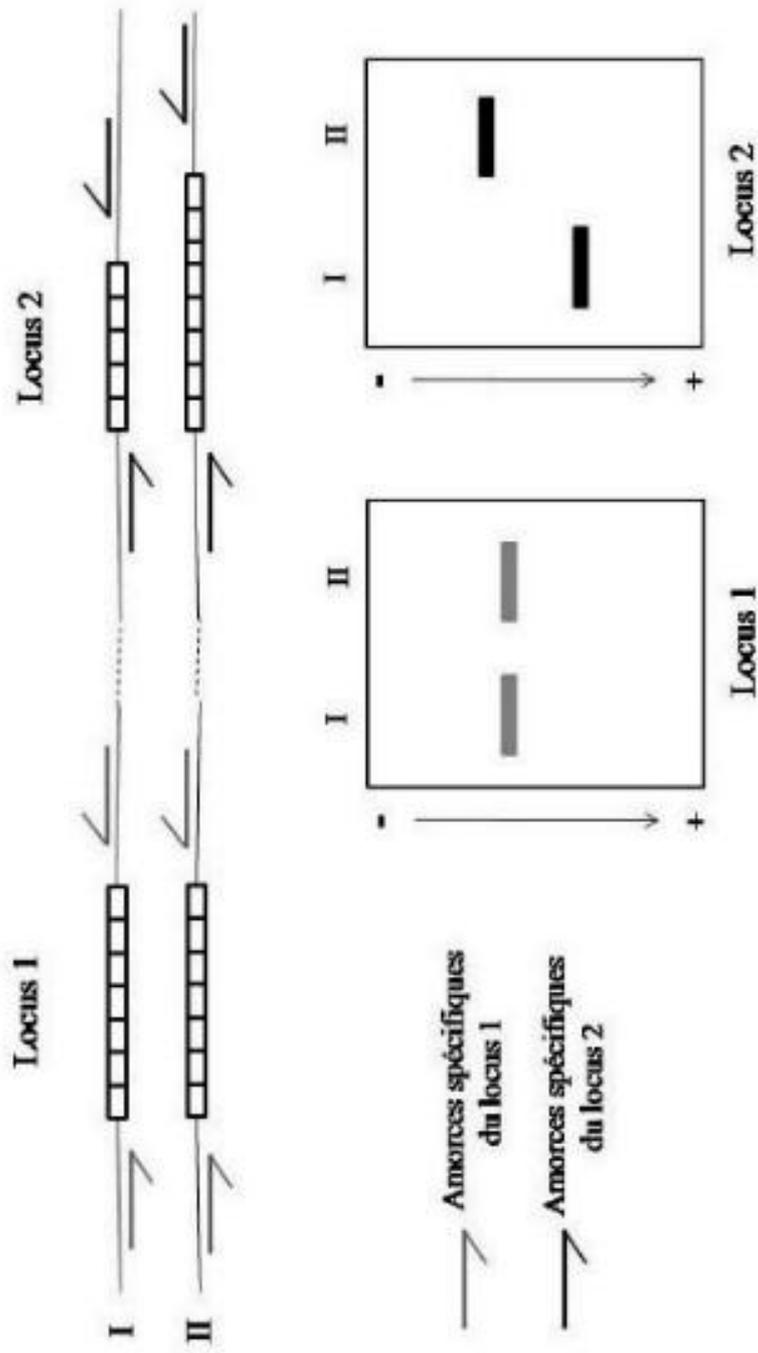


Tableau. 3 Comparaisons entre les marqueurs RFLP, AFLP et SSR

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 homologues de séquences, elle peut être utilisée pour des analyses phylogénétiques 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 synthèses. • 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 de 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'y a pas besoin de connaître une séquence et de créer des sondes spécifiques. • Elle permet la création facile et rapide de cartes génétiques • 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 coûteuse. • 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. • Ils sont très largement utilisés • Il y a 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. 	<ul style="list-style-type: none"> • La préparation des microsatellites est très lourde car il faut cribler une banque génomique enrichie avec une sonde du microsatellite, séquencer les clones positifs , synthétiser les amorces oligonucléotidiques et tester les paires d'amorces dans un échantillon d'individus.

Chapitre II : Matériel et Méthodes

Introduction

Le but de ce chapitre est de caractériser les traits physiologiques, biochimiques, agronomiques et génétique liés à la tolérance à la sécheresse. Ce travail consiste aussi en l'analyse du déterminisme génétique de la variation phénotypique, par une étude d'association marqueur/ phénotype pour les traits quantitatifs.

Ce travail a été réalisé sur des blés tetraploides, des variétés de diverses origines, se caractérisant par des capacités agronomiques de productivité et de tolérance contrastés.

Trois expérimentations ont été réalisées ; un essai en condition semi contrôlée, un essai au champ et un essai en chambre de culture (contrôlée), avec pour chaque expérimentation, des conditions stressantes (déficit hydrique ou pluviales) et irrigué. 40 variétés de blé dur ont fait l'objet de ce travail de thèse (locales se caractérisant par une meilleure adaptation et une faible productivité; introduites améliorées et plus productives mais moins tolérantes au climat de culture) leurs origines sont présentés dans le **tableau. 4**

N°	Variétés	Origine	Essai
1	Bidi17	Algérie	3
2	Collesseo (Col)	Italie	3
3	Cannizo (can)	ITALIE	3
4	Beltagy	ICARDA	3
5	Bouslem	Algérie	3
6	Benswif	EGYPT	3
7	waha	ICARDA	3
8	Oued Znatie	Algérie	3
9	Hedba3	Algérie	3
10	Cirta	Algérie	3
11	Amar	Algérie	3
12	Djenah khotifa T	Tunisie	3
13	line3d	EGYPT	3
14	CAPEITI 8	Italie	3
15	CHEN 'S'	Mexique/Algérie	3
16	KORIFLA = SHAM -3	Syrie	3
17	TELL 76	Algérie (Elkhroub)	3
18	TASSILI	Algérie (Elkhroub)	3
19	COCORIT C 71	Mexique	3
20	KYPEROUNDA	Chypre	3
21	HAURANI	Syrie/Jordanie	3
22	SAHEL	Algérie (Elkhroub)	3
23	SENATORE-CAPELLI	Italie	3
24	YAVAROS-79	Mexique	3
25	Ofonto	Italie	3
26	Mrf1/Stj2//Gdr2/Mgn1	ICARDA/Algérie	3
27	Otb4/3/HFN94N-8/Mrb5//Zna-1	ICARDA/Algérie	3
28	Oss1/Stj5/5/Bidra1/4/Bezaiz-SHF//SD-19539/Waha/3/Stj/Mrb3	ICARDA/Algérie	3
29	F4 13/3/Arthur71/Lahn//Blk2/Lahn/4/Quarmal=ICAMOR-TA04-69	ICARDA/Algérie	3
30	Lahn/Ch12003	ICARDA/Algérie	3
31	Ter-1/3/Stj3//Bcr/Lks4	ICARDA/Algérie	3
32	Villemur/3/Lahn//Gs/Stk/4/Dra2/Bcr/5/Bcr/Lks4/4/Bezaiz-SHF//SD-19539/Waha/3/Stj/Mrb3	ICARDA/Algérie	3
33	Adnan-1	ICARDA/Algérie	3
34	Miki-2	ICARDA/Algérie	3
35	Rahouia	Algérie	1, 2 et 3
36	Guemgoum r'kham	Algérie	1, 2 et 3
37	Djenah khotifa	Algérie	1, 2 et 3
38	Vitron	Espagne	1, 2 et 3
39	Béliouni	Algérie	1, 2 et 3
40	Gta dur	Cimmyt (Mexique)	1, 2 et 3

1. Expérimentation 1. Evaluation et détermination des traits physiologiques impliqués dans la réponse des variétés de blé dur aux conditions limitantes en eau

Cette expérimentation a été réalisée en pots, portant sur six variétés de blé dur (Rahouia, Guemgoum r'kham, Djenah khotifa, Vitron, Béliouni et Gta dur) (**tableau. 4**) dans des conditions expérimentales semi contrôlées (sous serre).

1.1 Conduite de l'essai

Dix graines de blé dur sont mises à germer dans des boîtes de pétrie. Après germination, les plantules sont repiquées dans des pots en plastique sur un mélange de terre/sable **3 : 1**. Les pots sont disposés d'une manière aléatoire (randomisation totale). Les plantes sont irriguées à la capacité aux champs des pots jusqu'au stade floraison. A ce stade les pots sont séparés en deux lots. Chaque lot a subi un traitement hydrique différent jusqu'à la fin de l'essai: le premier lot concerne les plantes témoins, il est irrigué à saturation. Parallèlement le deuxième lot est privé d'irrigation, il représente les plantes stressées. Les pots de ce dernier sont pesés quotidiennement afin de quantifier les pertes en eau du sol et par conséquent estimer la capacité au champ en fonction de la durée de privation de l'irrigation. Les taux de réduction retenus, dans cette étude, sont 80%, 60%, 40% et 12% de la capacité au champ. Le maintien de ces seuils de capacité au champ, nous permet de tester les variétés étudiées sur plusieurs niveaux de stress hydrique, stress faible (80%), modéré 60-40% et stress sévère 12%.

Dans cette expérimentation plusieurs paramètres physiologiques ont été étudiés; tels que la photosynthèse nette (P_n), la transpiration (T) et la résistance stomatique (R_s); Ces paramètres sont réalisés à l'aide d'un appareil portatif de mesure (LCA4, ADC Hoddesdon, England) (**Figure.10**). La photosynthèse nette est exprimée par $\mu\text{mol}_{\text{CO}_2} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, la transpiration par $\text{mmol}_{\text{H}_2\text{O}} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-2}$, alors que la résistance stomatique est estimée par ($\text{m}^2 \cdot \text{s} \cdot \text{mol}^{-1}$). la chlorophylle (Unité SPAD); ce dernier est déterminé à l'aide d'un chlorophylle meter, model (MINOLTA de type SPAD) (**Figure.10**), la matière sèche en g (MS) et l'efficacité de l'utilisation de l'eau (Water Use Efficiency: WUE ($\mu\text{mol}_{\text{CO}_2} / \text{mmol}_{\text{H}_2\text{O}}$), estimée par le rapport (P_n/T) de l'assimilation nette en CO_2 (P_n) par unité d'eau transpirée (T) par feuilles (Sinclair et *al.*, 1984).

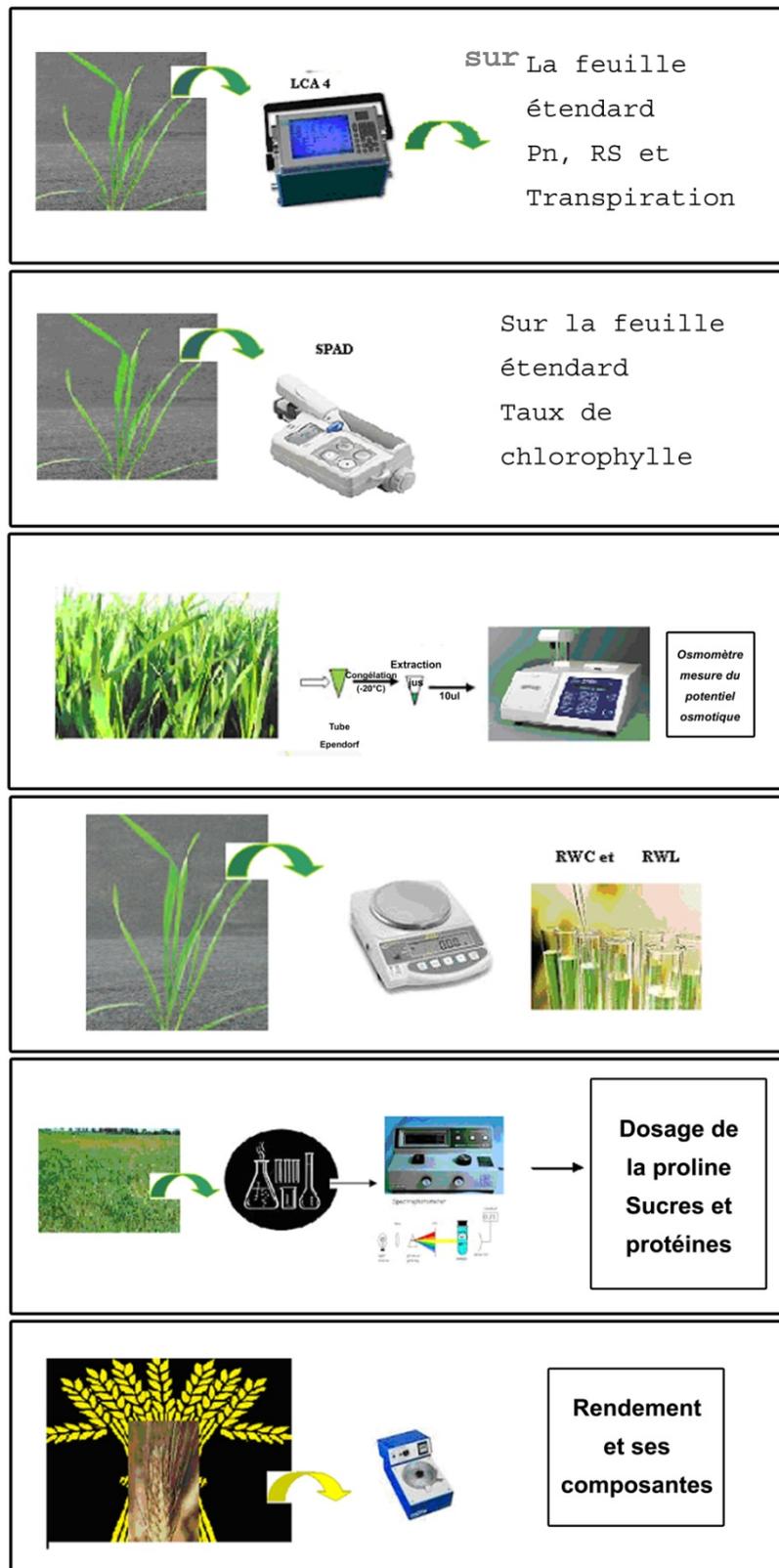


Figure. 10 Appareils et méthodes utilisées pour réaliser les mesures physiologiques, biochimiques et agronomiques

2. Experimentation. 2 Détermination et évaluation des traits biochimiques, paramètres liés à l'état hydrique de la plante, le rendement et ses composantes. (Essai au champ)

2.1 Présentation de la région d'étude

L'essai a été conduit à la ferme expérimentale agricole de l'Institut Technique des Grandes Cultures ITGC de Constantine à une altitude de 640m, une latitude de 6.67 Est et a une longitude de 36.67 Nord. durant la campagne agricole de 2005/2006. Cette région est sous la dominance d'un climat continental à fortes amplitudes thermiques, tant annuelles que journalières. Les sols du site expérimental appartiennent au groupe des sols argilo-limoneux. Les conditions climatiques de la campagne sont présentées dans la figure.11.

Du point de vue climatique, cette campagne agricole est caractérisée par une période de sécheresse de presque deux mois, du mois de Mars jusqu'à la fin- Avril (figure. 11). La saison d'Hiver est caractérisée par un excès pluviométrique, des pluies importantes sont survenues de Décembre au mois de Mars. Les pluies du mois de Décembre ont permis une bonne installation de la culture. Durant cette campagne, le déficit hydrique débute lorsque la végétation se trouve en plein développement et plus précisément au cours du stade fin Montaison - début Gonflement, ce qui est appelé communément par le déficit hydrique de fin de cycle. La figure.12 montre que la pluviométrie du mois de Mars et Avril de cette campagne a été inférieure à la moyenne sur 25 ans, calculée par l'office National de la Météorologie.

2.2 Mise en place de l'essai

Un ensemble de travaux culturaux ont été effectués pour la mise en place de l'expérimentation. Un labour profond (25 cm) a été effectué à l'aide d'une charrue à disques, immédiatement après les premières pluies d'automne (septembre et octobre). Un apport de 100 kg par ha d'engrais phosphaté (superphosphate 46%) a été réalisé avant le semis. Deux passages croisés de covercrop visaient à réduire l'infestation par les mauvaises herbes et à obtenir un bon lit pour les semences. La fumure azotée sous forme d'Ammonitrate a raison de 1q/ha a été apporté au stade tallage. Le semis a été réalisé à l'aide d'un semoir expérimental de 1.5 mètres de large et une densité de 120 Kg/ ha, dans un dispositif en blocs complètement randomisé avec 4 répétitions par bloc dans une parcelle ayant comme précédent cultural une jachère travaillée. L'essai comportait deux blocs ; l'un conduit en irriguée et l'autre sous

condition pluviale. Chaque bloc comprend vingt huit parcelles élémentaires de trois mètres de long et 1,2 mètres de large (3m x 6x 0.20 m), avec un espacement de 0,40 m entre les parcelles élémentaires et d'un mètre entre les blocs.

Le semis a été réalisé le 05/12/2005. L'étude a porté sur six variété de blé dur (Rahouia, Guemgoum r'kham, Djenah khotifa, Vitron, Béliouni et Gta dur). Les semences ont été traité par un fongicide : Dividend contre les maladies Cryptogamiques. La fumure azotée a été apportée sous forme d'Ammonitrate à 46% de 1q/ha réalisé au stade tallage par un épandage au superphosphate à la dose 1q/ha et un apport d'engrais avec l'urée 46 % de 1q/ha. Deux désherbages chimiques ont été utilisés ; le premier appelé « Zoom » est un Anti-dicotylédone réalisé au stade fin-tallage et le deuxième « Topik » qui est un Anti-cotylédone. Des mesures réalisées par une tarière ont permis de suivre l'état hydrique du sol sur deux profondeurs : (20 et 40) cm. Cinq irrigations de complément ont été apportées dans l'essai avec irrigation, au stade tallage et durant la période qui s'étale de l'épiaison à la fin floraison (**annexe. 1**):

2.3 Mesures et analyses effectuées au cours du développement de la plante

2.3 1. Caractères phénologiques : Tous les stades de développement phénologiques ont été déterminés selon l'échelle de (ZADOCKS et al, 1974), quand 50 % des plantes par parcelle avaient atteint le stade donné.

2.3 2 Paramètres morphologiques

1. la hauteur de la plante «H.P » (cm)
2. longueur de l'épi « L.E » (cm)
3. longueur du col de l'épi « L.C.E » (cm)
4. longueur de la barbe « L.B » (cm)
5. la surface foliaire « S.F » (cm²)

2.3 3 Rendement et composantes du rendement

1. Nombre de talles par mètre (NT/m²)
2. Nombre de plants par mètre (NP /m²)
3. Nombre d'épi par mètre (NE/m²)
4. Nombre de grains par épi (NG/E)
5. Poids de mille grains (PMG)
6. Rendement en grains (Rdt .G)
7. Rendement en biomasse aérienne (Biom)
8. Indice de récolte

2.3 4 Paramètres physiologiques

2.3. 5 Paramètres biochimiques

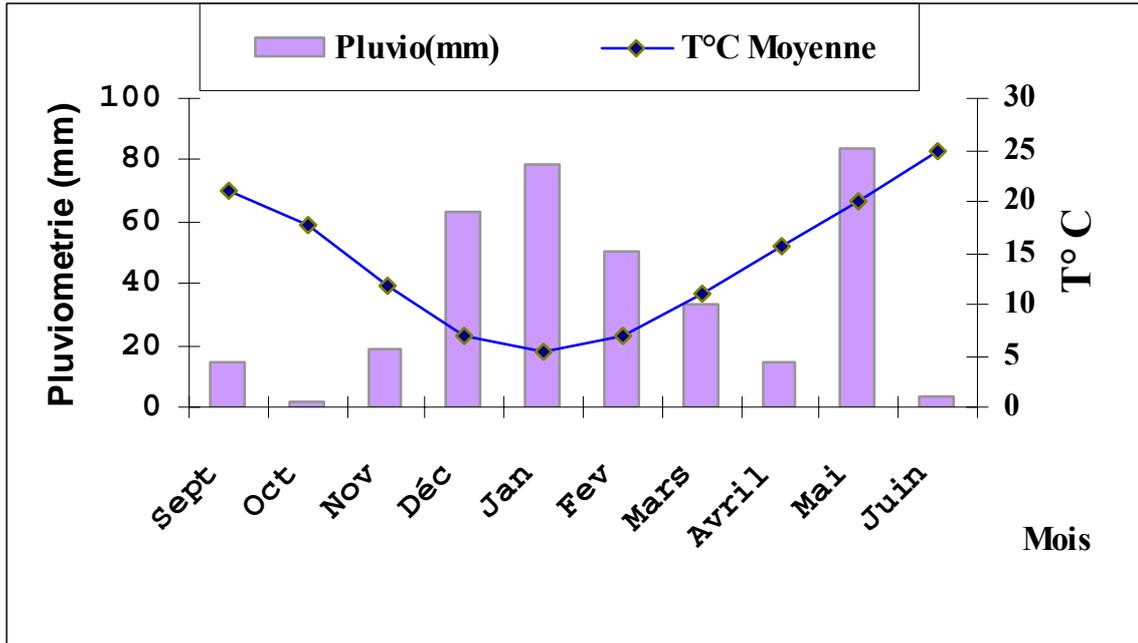


Figure. 11 : Diagramme ombrothermique de la campagne 2005-2006.

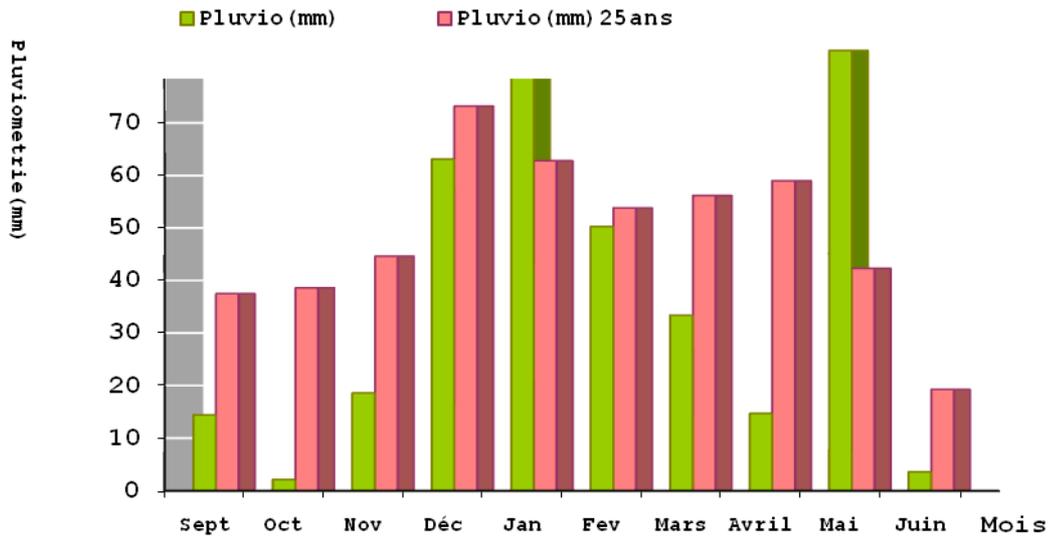


Figure. 12 Pluviométrie moyenne (mm) sur 25 ans (1970/1971 à 1994/1995)

3. Expérimentation. 3 Étude de la variation phénotypique et génotypique, et association entre marqueur et phénotype

Cet essai a été réalisé en chambre de culture (contrôlée) à ICARDA Syrie (**Figure. 13**), l'objectif est d'identifier les bases génétiques de la variation phénotypique. Par l'étude d'association génétique, cette approche analyse l'association statistique entre la variation phénotypique (rendement et ses composantes, les paramètres phénologiques (la date d'épiaison) et les paramètres morphologiques (la hauteur de la plante à maturité) et le polymorphisme génétique à l'aide de marqueurs moléculaires de type SSR. Le principe du génotypage des microsatellites est d'amplifier, par la technique de PCR (Polymerase Chain Reaction), spécifiquement un fragment d'ADN comportant le marqueur microsatellite encadré par deux séquences connues utilisées comme amorces, puis de séparer les différentes tailles des amplifiats, correspondant aux divers profils alléliques de ce marqueur, par électrophorèse capillaire. Le séquenceur intègre les différentes émissions de fluorescence émises par l'excitation par un laser des fluorochromes marquant les différents microsatellites en Pic et à l'aide de logiciel on peut distinguer les différents marqueurs par leurs marquages et les allèles par leur taille, estimée en fonction des différents pics du marqueur de taille. Dans cet essai le génotypage a été effectué sur quarante variétés de blé dur semis au champs de la ferme expérimentale ITGC (Institut Technique des Grandes Cultures) Constantine en randomisation totale. L'extraction de l'ADN a été réalisée sur 50mg de feuilles fraîches selon la méthode de Saghai-Maroof (1984) avec l'utilisation de 26 marqueurs fluorescents, la migration a été réalisée avec un séquenceur *ABI 3100*.



Figure. 13 vue d'un essai en conditions contrôlées

4. Dispositifs et principes des méthodes utilisées

4.1. Paramètres physiologiques

4.1.1 Mesure de la photosynthèse nette (Pn) et paramètres associés

Ces paramètres sont réalisés à l'aide d'un appareil portatif de mesure (LCA4, ADCHoddesdon, England). Les mesures ont été effectuées au stade floraison sur la feuille étendard complètement attachée en raison de trois répétitions pour chaque mesure. La photosynthèse nette est exprimée par $\mu\text{mol}_{\text{CO}_2\text{assimilé}} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, la transpiration par $\text{mmol}_{\text{H}_2\text{Odegagé}} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-2}$ alors que la résistance stomatique est estimée par ($\text{m}^2 \cdot \text{s} \cdot \text{mol}^{-1}$).

4.1.2 Mesure de la chlorophylle (Unité SPAD)

Le taux de chlorophylle est déterminé à l'aide d'un chlorophylle meter (model MINOLTA de type SPAD). Avant toute mesure, l'appareil doit être réglé (nombre de signal par tour) et calibré (N=0). Dans ce protocole le taux de chlorophylle est évalué par unité SPAD.

4.1.3 Efficacité de l'utilisation de l'eau (Water Use Efficiency: WUE ($\mu\text{molCO}_2/\text{mmolH}_2\text{O}$))

L'efficacité de l'eau utilisée est estimée au niveau de la feuille. Cette estimation consiste à calculer le rapport (P_n/T) de l'assimilation nette en CO_2 (P_n) par unité d'eau transpirée (T) par feuilles (Sinclair et *al.*, 1984).

4.1.4 Le potentiel osmotique (P_o)

Le potentiel osmotique du grec (osmose = poussée) qui tend à faire pénétrer l'eau du milieu hypotonique vers le milieu hypertonique. Donc le P_o : dépend de la concentration des solutés dans les cellules. Les mesures ont été effectuées, sur des échantillons congelés, à l'aide d'un microvoltmètre à point de rosée (Wescoring), le mode de mesure est celui du point de rosée. Les échantillons prélevés sont décongelés, on extrait le jus, et à l'aide d'une micropipette on prend $10 \mu\text{l}$ de ce dernier, avec lesquelles nous allons imprégner les disques de papier filtre de 6 mm que nous allons insérer dans la chambre à échantillon. Dont la fermeture initialise la séquence des mesures automatiques. Le cycle de mesure requiert 75 secondes. Avant chaque série de mesures, on procède à l'étalonnage de l'appareil, la courbe d'étalonnage est réalisée à 25°C en utilisant une solution de NaCl à ($0.1, 0.2, 0.3, 1\text{N}$), dont on connaît le (Ψ_o) en fonction de la température. Les lectures que nous donne l'appareil concernant la concentration de la solution de NaCl exprimée en mmol/mg , le P_o est converti en BARS en utilisant le tableau de (Lang, 1956).

4.2. Paramètres liés à l'état hydrique de la plante

4.2.1 La teneur relative en eau (TRE)

La teneur relative en eau est déterminée par le pourcentage d'eau présent dans la feuille étendue excisée à la base du limbe et immédiatement pesée (poids frais **PF**), l'extrémité sectionnée est trempée dans de l'eau distillée et portée à l'obscurité pendant 24 heures afin d'obtenir un taux maximal de réhydratation. La feuille est retirée, passée dans un papier buvard pour absorber l'eau de la surface est pesée (poids de turgescence **PT**), la feuille est en fin séchée à l'étuve à une température de 75°C pendant 48 heures puis pesée une dernière fois (poids sec **PS**). La teneur relative en eau (**TRE %**) ou (RWC), a été déterminée à partir de la formule de (Clarck et Mc-Caig, 1982) :

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

4.2.2. Taux de déperdition d'eau (RWL)

C'est une méthode qui permet l'identification des génotypes de blé adaptés à des conditions défavorables. Elle permet d'évaluer le taux de déperdition d'eau des feuilles excisées selon la formule suivante (Monneveux, 1991) :

$$\text{RWL} = [(\text{Pi} - \text{P2h}) / \text{Ps}] \times [1 / (\text{SF} \times 120\text{mn})]$$

Pi : Poids initial de la feuille ; • **P2h** : poids de la feuille après 2 heures ; • **Ps** : poids sec de la feuille après 24h à l'étuve à 80°C et • **SF** : Surface foliaire.

4.3. Paramètres biochimiques

4.3.1. Dosage des sucres solubles

Les sucres solubles totaux (saccharose, glucose, fructose, leurs dérivés méthyles et les polysaccharides) sont dosés par la méthode de (Dubois et al, 1956). Elle consiste à prendre 100 mg de matériel végétal, dans des tubes à essai, on ajoute 3 ml d'éthanol à 80% pour faire l'extraction des sucres, puis on laisse à température ambiante pendant 48 heures. Au moment du dosage les tubes sont placés dans l'étuve à 80°C pour faire évaporer l'alcool. Dans des tubes en verre propres, on met 2 ml de la solution à analyser, on ajoute 1 ml de phénol à 5% ; on ajoute rapidement 5 ml d'acide sulfurique concentré 96% (d = 1,86) tout en évitant de verser de l'acide contre les parois de 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 10 min et on les place au bain-marie pour 10 à 20 min à une température de 30°C. A ce moment là l'absorbance est lue à une longueur d'onde de 485 nm.

4.3.2. Dosage de la proline

La méthode utilisée pour doser la proline est celle de (Troll et Lindsley. 1955) modifiée par (Dreier et Goring. 1974), et ensuite par (Monneveux et Nemmar .1983). Elle consiste à prendre 100 mg du matériel végétal (1/3) médian de la feuille étandard. Puis à ajouter 2 ml de méthanol à 40% le tout est chauffé à 85°C dans un bain-marie pendant 60 min. Après refroidissement, on prélève 1 ml d'extrait auquel on ajoute :- 1 ml d'acide acétique (CH₃COOH) ; - 25 mg de ninhydrine (C₆H₆O₄) et

- 1 ml de mélange contenant : 120 ml d'eau distillée ; 300 ml d'acide acétique et 80 ml d'acide orthophosphorique (H_3PO_4 , $d=1,7$). le mélange est porté à ébullition durant 30 min, la solution vire au rouge, après refroidissement, 5 ml de Toluène sont rajoutés à la solution qui est agitée, deux phases se séparent (une phase supérieure et une phase inférieure). Après avoir éliminer la phase inférieure, la phase supérieure est récupérée et déshydratée par l'ajout d'une spatule de Sulfate de sodium Na_2SO_4 anhydre. On détermine la densité optique à 528 nm.

4.3.3. Dosage des protéines totales

La méthode retenue pour le dosage des protéines totales est celle de Bradford (1976) qui utilise la BSA (Sérum d'Albumine de Bovin) comme standard. Elle consiste à prendre 10 mg du matériel végétal, chaque échantillon est broyé avec 5ml d'eau distillée puis filtré et versé dans un tube à essai contenant 5ml d'eau distillée. Pour le dosage on prend 0.2ml de réactif Bradford (**annexe. 2**) avec 0.2 ml de la solution à analyser et 1.6ml d'eau distillée (bien agiter au vortex) . Parallèlement, il est préparé un essai de contrôle en utilisant 0.2ml d'eau distillée; après 5min à une heure on procède à la lecture de l'absorbance à 595nm.

4.3.4. Electrophorèse des protéines de réserves (glutenines)

L'électrophorèse est une technique biochimique de séparation fondée sur le fait que des molécules portant des charges électriques migrent à des vitesses différentes lorsqu'elles sont placées dans un champ électrique. L'idée d'utiliser cette caractéristique pour séparer des molécules remonte à la fin du dix-neuvième siècle grâce aux travaux du biochimiste suédois Arne Tiselius (1902-1971), prix Nobel de chimie en 1948. Il a réussi le premier à séparer par cette technique les protéines contenues dans des liquides biologiques complexes comme le sérum sanguin et le lait. Aujourd'hui, l'électrophorèse est devenue une technique de routine dans les laboratoires où on l'utilise pour séparer notamment les protéines et les acides nucléiques. L'électrophorèse des protéines peut être réalisée sur des supports variés, notamment sur gel de polyacrylamide ou sur gel d'agarose selon les informations recherchées.

i) Principe de l'électrophorèse

Selon le principe de l'électrostatique lorsqu'un ion de quantité de charge q est placé dans un champ électrique E , une force F s'exerce sur cet ion avec une intensité donnée par l'équation :

$$F_{\text{électrique}} = qE$$

L'ion peut être assimilé à une sphère de rayon r en mouvement dans un fluide de viscosité h . De ce fait une force de friction s'oppose à la force électrique F . Par définition : **F friction** = $6\pi h r v$

Où v = vitesse de migration de l'ion, r = rayon de l'ion, h = viscosité du milieu.

A l'équilibre l'ion migre avec une vitesse constante de sorte que

$$F_{\text{électrique}} = F_{\text{friction}} \quad \text{d'où}$$

$$v = \frac{qE}{6\pi h r}$$

La mobilité électrophorétique μ est donnée par l'équation : $\mu = \frac{v}{E} = \frac{q}{6\pi h r}$

Cette équation nous montre que la mobilité électrophorétique est principalement fonction de la charge et de la taille de l'ion. Cela est valable pour toutes les techniques d'électrophorèse.

Les principales variantes de l'électrophorèse des protéines sont les suivantes :

SDS-PAGE. L'une des variantes les plus répandue de l'électrophorèse est la SDS-PAGE, utilisée pour séparer les protéines en fonction de leur poids moléculaire. Les protéines sont dénaturées par du S-dodecyl sulfate, molécule très fortement chargée négativement. Les charges négatives du SDS noient complètement les charges propres de la protéine qui n'interviennent alors plus. La charge de l'ensemble molécule dénaturée/SDS (et donc sa vitesse de migration) dépend alors uniquement de la longueur de la chaîne protéique.

ii) Extraction des gluténines HPM et FPM

L'extraction des glutenines a été effectuée selon la méthode de Singh et al. (1991); sur gel d'acrylamide en conditions dénaturantes ("*sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis*" ou *SDS-PAGE*). Elle consiste à prendre la moitié d'un grain, dont la masse

est d'environ 20mg, est écrasée en une fine poudre. Les gliadines sont extraites en premier dans la solution A (**Annexe.3**) : on procède a une agitation avec le vortex au moins deux fois , suivie d'une centrifugation (10minutes) et le surnageant est recueilli. Après avoir repeter l'extraction une autre fois, le résidu est lavé avec la solution A, centrifugé pendant 5 minutes ; ensuite tout le liquide est éliminé par aspiration.

Dans notre cas, le résidu obtenu lors de cette extraction des gliadines a formé le materiel de départ de la procédure d'extraction des glutenines. Les glutenines sont extraites à partir du résidu obtenu, dans une solution B (**Annexe.3**), contenant 1% P/V dithiotreitol ajouté a l'etat frais après une bonne agitation au vortex . Après cinq minutes de centrifugation, la solution B contenant 1.4% (V/V) du 4 vinylpyridine mélangé à l'état frais et ajouté à chaque tube qui est incubé pendant 15 minutes pour une alkylation des protéines. L'échantillon est ensuite centrifugé (2 minutes) et un aliquote (0.1ml) de surnageant est transféré dans un autre tube contenant la solution C (**Annexe.3**) (0.1ml) ce dernier est agité brièvement ensuite incubé (15 minutes) pour une complexation du SDS avec le polypeptide des glutenines reduites et alkylées. Après la centrifugation (2 minutes), les extraits protéiques sont déposés (8 à 10µl) sur les puits du gel d'acrylamide pour séparer par une SDS – PAGE des sous- unités glutenines. Pour évaluer le poids moléculaire des différentes bandes protéiques, deux kits sigma ont été utilisés (HPM pour les glutenines et LPM pour les gliadines) , (**Tableau. 5**)

iii) Révélation des gels

La coloration des gels a été effectuée au bleu de Coomassie (**Annexe. 4**)

Tableau. 5 Poids moléculaire des protéines de références (**Kit**)

<i>Protéines</i>	<i>Poids Moléculaire (Da)</i>
<u>HPM</u>	
- Myosine	220.000
- α_2 - Macroglobuline	170.000
- β - Galactosidase	116.00
- Transferrine	76.000
- Glutamic dehydrogenase	53.000
<u>LPM</u>	
- Phosphorylase b	97.000
- Albumine	66.000
- Ovalbumine carbonic	45.000
- Anhydrase	30.000
- Trypsin inhibitor	20.100
- α - lactalbumine	14.400

4.4. Rendement et ses composantes.

- 4.4. 1. Nombre de talles par mètre (NT/m²)
- 4.4. 2. Nombre de plants par mètre (NP /m²)
- 4.4. 3. Nombre d'épi par mètre (NE/m²)
- 4.4. 4. Nombre de grains par épi (NG/E)
- 4.4. 5. Poids de mille grains (PMG)
- 4.4. 6. Rendement en grains (Rdt .G)
- 4.4. 7. Rendement en biomasse aérienne (Biom)
- 4.4. 8. Indice de récolte (IR) :

Cet indice représente le rapport du rendement en grains sur le rendement total (grains+ paille) : c'est un indicateur de la capacité du génotype à produire des grains sous les contraintes hydrique auxquelles il est soumis, une valeur élevée de ce rapport signifie que la translocation de photosynthétats vers les sites est bonne et qu'une part importante de ces derniers a contribué au remplissage des grains. Ce paramètre est déterminé par le rapport :

$$\text{IR} = \text{RDT .G/RDT}$$

5. Marquage moléculaire par les microstellites SSR

5.1 Extraction et quantification de l'ADN

L'extraction d'ADN a porté sur 50 mg de feuilles fraîches, broyées dans l'azote liquide selon la méthode de Saghai-Marooof (1984). La concentration en ADN des différents échantillons a été déterminée en comparant l'intensité des bandes obtenues après migration sur gel d'agarose à 1% à celle de l'ADN standard, On dépose 5µl de l'échantillon + 3 µl de bleu de charge, et on laisse migrer environ une heure. La révélation du gel se fait par et par UV et le BET : bromure d'éthidium (100µl de BET dans 1l d'eau distillée) pendant 10 min, suivi par deux lavages à l'eau distillée (**Figure . 14**)

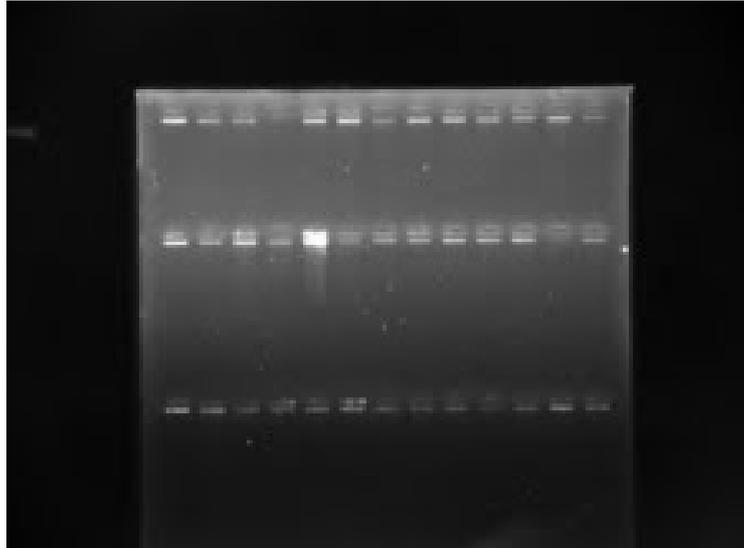


Figure. 14 Test de qualité de l' ADN des variétés de blé dur étudiées

5.2 Marqueurs microsatellites utilisés

Un jeu de 26 marqueurs microsatellites a été utilisé dans cette étude, Les noms de ces marqueurs, leurs séquences, les motifs de base et leur taille sont présentés dans le Tableau.6, les marqueurs sont de deux types, obtenus par deux sources : les de marqueurs de type Xgwm ou WMS (Xgwm; Roider et al., 1998) le deuxième type; wheat microsatellite consortium (WMC) a été sélectionné dans la base de données (www.graingenes.org) . Ces marqueurs moléculaires ont été utilisés pour examiner la diversité génétique des écotypes locales et introduites. Le genotypage a été réalisé après amplification par PCR avec des amorces fluorescentes (**Tableau. 6**). Les réactions de PCR sont réalisées dans un thermocycleur Applied Biosystems.

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

Tableau . 6 Description des SSR loci utilisés							
Marker	Forward Primer (5' -> 3')	Reverse Primer (5' -> 3')	len	lab	ps (pb)	loc	
WMC54	TATTGTGCAATCGCAGCATCTC	TGCGACATTGGCAACCACTTCT	22	NED	142	3B	
WMC63	GTGCTCTGGAACCTTCTACGA	CAGTAGTTTAGCCTTGGTGTGA	22	VIC	192	2A	
WMC78	AGTAAATCCTCCCTTCGGCTTC	AGCTTCTTTGCTAGTCCGTTGC	22	Fam	241	3B	
WMC105	AATGTCATGCGTGTAGTAGCCA	AAGCGCACTTAACAGAAGAGGG	22	Fam	192	6B	
WMC_150	CATTGATTGAACAGTTGAAGAA	CTCAAAGCAACAGAAAAGTAAA	22	NED	165	2A	
WMC_153	ATGAGGACTCGAAGCTTGGC	CTGAGCTTTTGCGCGTTGAC	20	Fam	177	3A	
WMC_165	CACACTCGCACGATTTTCTAT	TCGTTACACTGGAAGTGGTCT	22	NED	188-193	3A	
WMC167	AGTGGTAATGAGGTGAAAGAAG	TCGGTCGTATATGCATGTAAAG	22	VIC	185	2B	
WMC168	AACACAAAAGATCCAACGACAC	CAGTATAGAAGGATTTTGAGAG	22	Fam	319	7A	
WMC177	AGGGCTCTTTAATTCTTGCT	GGTCTATCGTAATCCACCTGTA	22	VIC	184	2A	
WMC179	CATGGTGGCCATGAGTGGAGGT	CATGATCTTGCCTGTGCGTAGG	22	VIC	184	2A	
WMC235	ACTGTTCCATCCGTGCACTGG	GAGGCAAAGTTCTGGAGGTCTG	22	VIC	235	5B	
WMC307	GTTTGAAGACCAAGCTCCTCCT	ACCATAACCTCTCAAGAACCCA	22	NED	145	3B	
WMC322	CGCCCCACTATGCTTTG	CCCAGTCCAGCTAGCCTCC	17	NED	95	3A, 3B	
WMC445	AGAATAGGTTCTTGGGCCAGTC	GAGATGATCTCCTCCATCAGCA	22	Fam	229	5A	
WMS06	CGT ATC ACC TCC TAG CTA AAC TAG	AGC CTT ATC ATG ACC CTA CCT T	22	VIC	207 - 196	4B	
WMS108	ATT AAT ACC TGA GGG AGG TGC	GGT CTC AGG AGC AAG AAC AC	20	Fam	135- 137	3B	
WMS118	GAT GGT GCC ACT TGA GCA TG	GAT TG TCA AAT GGA ACA CCC	20	Fam	110	5B	
WMS135	TGT CAA CAT CGT TTT GAA AAG G	ACA CTG TCA ACC TGG CAA TG	20	VIC	153 -176	1A	
WMS149	CAT TGT TTT CTG CCT CTA GCC	CTA GCA TCG AAC CTG AAC AAG	21	NED	161	4B	
WMS169	ACC ACT GCA GAG AAC ACA TAC G	GTG CTC TGC TCT AAG TGT GGG	22	VIC	220	6A	
WMS198	TTG AAC CGG AAG GAG TAC AG	TCA GTT TAT TTT GGG CAT GTG	20	Fam	130	4A	
WMS30	ATC TTA GCA TAG AAG GGA GTG GG	TTC TGC ACC CTG GGT GAT TGC	21	VIC	196-205	3A	
WMS304	AGG AAA CAG AAA TAT CGC GG	AGG ACT GTG GGG AAT GAA TG	20	VIC	202	5A	
WMS375	ATTGGCGACTCTAGCATATACG	GGGATGTCTGTTCCATCTTAGC	22	NED	156-204	4B	

5.3 Réaction d'amplification en chaîne (PCR) de l'ADN microsatellite

La «Polymerase Chain Reaction» est une technique de réplification ciblée *in vitro*. Inventée par K. Mullis en 1985 (Prix Nobel dès 1993), elle connaît un essor considérable à partir de la commercialisation (vers 1988), d'une ADN polymérase résistante aux températures élevées (la Taq polymérase), qui permet une automatisation de la technique. La PCR est une succession de cycles d'amplification comportant une étape de dénaturation de la double hélice de l'ADN, une étape d'hybridation des amorces sur l'ADN cible et une étape de synthèse du fragment analysé (c'est-à-dire l'élongation des amorces en prenant pour modèle le brin hybridé à l'amorce). (Figure. 15)

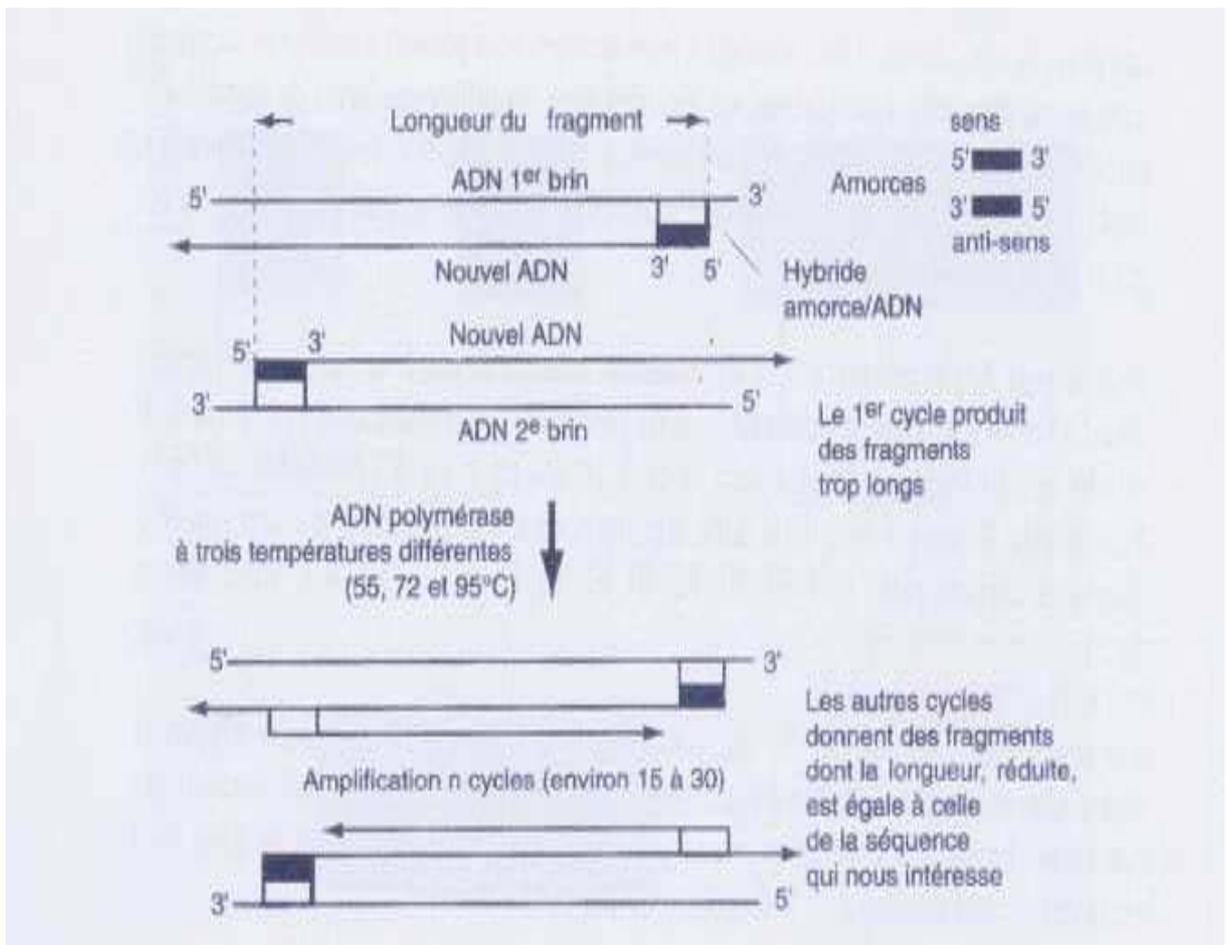


Figure. 15 Principe de la PCR (d'après [Swynghedauw, 2001])

Les séquences nucléotidiques des amorces utilisées au cours de ce travail sont données dans le tableau.6 .Chaque échantillon de PCR est constitué d'un mélange de Mix avec un volume final de 10 µl : contenant un mélange optimisé de 1× PCR buffer, 2.5mM MgCl₂, 0.2mM dNTP mix, 0.05µM de chaque amorce (Au total, 26 loci ont été utilisés initialement, les informations relatives à ces loci sont présentées au **tableau.6**). 1.0 U Taq polymerase, (purifiée à partir de la bactérie *Thermus aquaticus*), et 60 ng de DNA. Les thermocycles utilisés sont basés sur les conditions générales suivantes : une étape de dénaturation initiale de 4 min à 94°C, 35 cycles comprenant : une étape de dénaturation à 94°C (60 sec),- une étape d'hybridation des amorces à une température spécifique 58-60°C de ces dernières (1 min), une étape d'élongation à 72°C (1 min) et une étape d'élongation finale (7 min) à 72°C. La microplaque a été placée dans un thermocycleur Applied biosystems. Un contrôle sur gel d'agarose à 2 % des produits de PCR est réalisé afin de vérifier la qualité de l'amplification. La plaque est mise à l'abri de la lumière à l'aide d'une feuille aluminium pour éviter la dégradation du fluorochrome.

5.4 Migration sur séquenceur

Dans un souci d'économie et de rapidité, les produits de PCR d'un même individu ont été groupés par trois selon le fluorochrome utilisé au cours de la PCR. Cela permet de faire migrer au cours d'un même run d'analyse les produits de trois marqueurs. Les allèles de ces derniers sont différenciés par la couleur du fluorochrome porté par les amorces de PCR; VIC (tétrachloroFluorescéine, fluorescent dans le vert), FAM (5-carboxy fluorescéine, fluorescent dans le bleu) et HEX (6-carboxy 2',4',7',4,7 -hexachloro fluuorescéine, fluorescent dans le jaune). (la lecture se fait trois à trois, fluorochrome Fam couplé avec un fluorochrome Hex et Vic) (**Fig. 16**) . Cette stratégie a été appliquée à l'ensemble des marqueurs microsatellites analysés. On prélève 1 µL de produit PCR pour chaque microsatellite, que l'on place dans le même puits du génotypeur (multiplexe) contenant 5µL de ROX (formamide, Applied

biosystems) (Le ROX sert d'étalonnage pour les poids moléculaires) contenant un marqueur de taille Genescan G350 . A l'aide d'un thermocycleur, on chauffe notre mélange à 95°C pendant 5 min, puis on le place tout de suite dans la glace (pendant au moins 10 min) afin de stopper toute renaturation éventuelle de l'ADN. La microplaque est alors centrifugée (1500 tours/min pendant 1 min) afin d'éliminer les éventuelles bulles qui rendraient impossible l'injection de la solution dans le capillaire et donc l'analyse de l'échantillon. Les paramètres de l'analyse sont rentrés dans le génotypeur (ABI Prism 3100 Genetic Analyser, Applied Biosystems), notamment : la gamme de coloration utilisée Le temps de migration est fixé à 3 h.

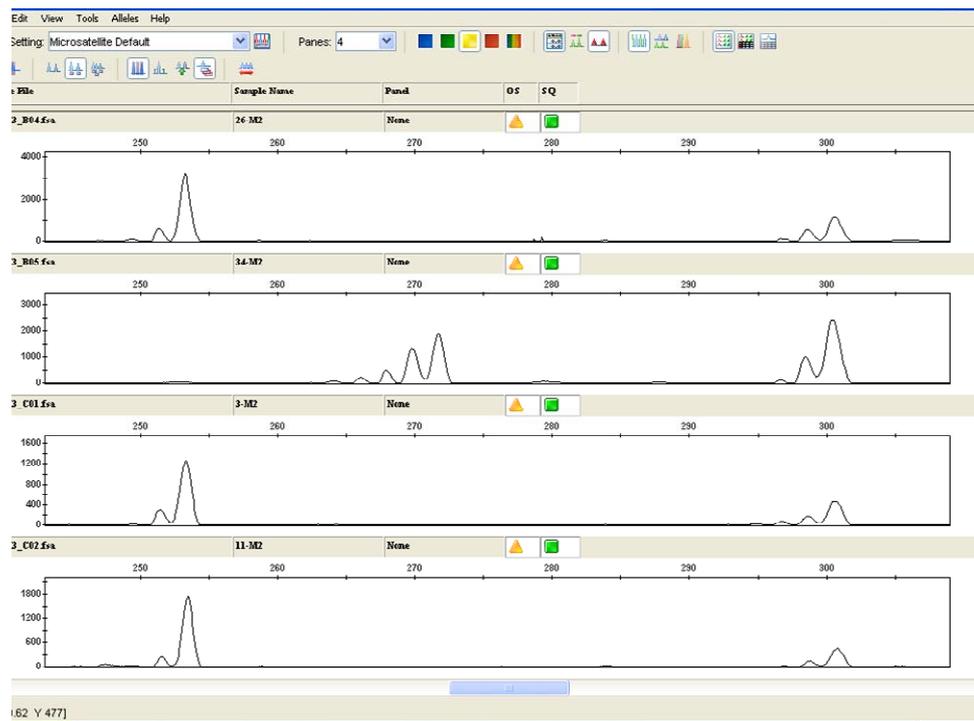




Figure. 16 Révélation du polymorphisme des microsatellites par PCR « ciblée ». Grâce aux amorces spécifiques de locus, Le polymorphisme des différents microsatellites peut être révélé sur Séquenceur (Séquenceur Abi 3100) à l'aide du logiciel GeneScan (3 locus SSR en multiplexage).

6- Méthodes d'analyse statistique

6.1 Traits phénotypique

6.1.1 Description des données

Pour mieux décrire les différentes variables morphologiques, physiologiques, biochimiques, nous avons calculé certains paramètres statistiques de base tels que la moyenne et l'écart -type qui mesure la dispersion des données autour de la moyenne. Ces paramètres ont été calculés à l'aide du logiciel d'analyse statistique des données Statistica version. 7 et Xlstat 2009

6.1.2 Test t de student

le test t de student consiste à comparer les moyennes de deux populations à l'aide de deux échantillons indépendants (Dagnelie, 2007). Ce test a été utilisé pour comparer entre les deux sites irrigué et non irrigué.

6.1.3 Méthodes statistiques multivariées

a. Test d'analyse de la variance multivarié (MANOVA)

La comparaison entre les variétés de blé dur étudiées, pour l'ensemble des paramètres mesurés a été réalisée à l'aide de l'analyse de la variance multivariées en utilisant trois tests statistiques qui sont : Wilk's lambda, Laweley-hotling et Pillai's trace (Dagnelie, 1979, 1986 et 2006). Ce test est une extension de l'analyse de la variance, quand on a plusieurs variables qui ont été observées simultanément sur les mêmes individus (sites). Les trois tests cités précédemment et qui sont proposés par Palm(2000) et Dagnelie (1970, 2006) sont asymptotiquement d'égale puissance et aucun test ne peut être recommandé de manière systématique. L'interprétation des résultats obtenus est réalisée par le programme Minitab 13. La comparaison de moyennes des résultats est testée par une analyse de l'ANOVA. La séparation des groupes homogènes basée sur la plus petite amplitude significative (P.P.A.S.) observée entre plusieurs moyennes est faite selon le test de Newman-Keuils au seuil de signification de 5% et 1%. De même, la détermination des coefficients de corrélations et de régressions linéaires est effectuée pour identifier les variables les plus corrélées (Thomassone, 1992).

b. analyse en composantes principales (ACP)

L'analyse en composantes principale est une méthode exploratrice et descriptive (Dagnelie, 1986). Elle est utilisée pour interpréter une matrice de données sans structure particulière ne comportant a priori, aucune distinction, ni entre les variables, ni entre les individus. Elle a pour but de remplacer les p variables initiales fortement corrélées entre elles en p variables appelées composantes principales ou axes principaux synthétiques non corrélés entre eux, et de variance progressivement décroissante. Les premières composantes pouvant éventuellement faire l'objet d'une interprétation particulière et les dernières pouvant généralement être négligées (Dagnelie, 1986).

c. Recherche de classes de variétés homogènes : analyse hiérarchique ou classification hiérarchique

Cette méthode permet de déterminer le niveau de similitude ou de divergence entre individus ou variétés et donne une répartition des individus en groupes ou classes homogènes sur la base des caractéristiques mesurées. La classification a été réalisée à l'aide du logiciel d'analyse statistique des données Xlstat 2009.

6.2 Analyses statistiques et moléculaires des données

Une analyse de la variance (ANOVA) a été réalisée pour chaque variable, en utilisant la procédure GLM du logiciel SAS version 9.1 (SAS Institute, 2000, Cary, NC, USA), pour tester les effets du génotype sur la variation des paramètres étudiés. Ainsi qu'une analyse en composantes principales (ACP) a été réalisée, et une matrice de corrélation a été calculée entre variables, l'obtention des vecteurs propres permet d'identifier les caractères les plus importants pour la différenciation phénotypique dans chacune des composantes principales.

La classification hiérarchique CHA, a été réalisée, la distance entre les individus a été calculé par le coefficient de similarité de Manhattan linkage complet, puis le regroupement des variétés a été fait par la méthode de la moyenne non pondérée (UPGMA= Unweighted Pair Groups Method of Analysis), les calculs ont été réalisés par le logiciel Darwin5.0. Une analyse factorielle Discriminante (AFD) a également été réalisée sur l'ensemble des paramètres étudiés avec le logiciel Genetix version 4.04 (Belkhir et al. 1999), afin de déterminer la similarité entre les individus selon leur origines géographiques.

Concernant l'analyse des données moléculaires, Il est important avant de procéder aux analyses moléculaire de regrouper les génotypes selon leurs structures génétiques en utilisant le logiciel STRUCTURE 2.3.3. doté d'un algorithme de regroupement (Pritchard et al., 2000). Le principe de cette analyse est basé sur le [model complexe d'admixture] avec corrélation des fréquences alléliques. Ce modele a été testé en utilisant 10 000 repetitions pour $2 \leq K \leq 10$ avec 100 permutations pour chaque valeur de K , Le symbole 'K' represente le nombre de regroupements a examiner.

Pour chaque valeur de K regroupements, les bandes de même couleur forment une même population. Simplement, la procédure consiste à regrouper les échantillons par une approche Bayésienne en fonction de la composition génétique des individus, sans tenir compte de leur origine. Le modèle présenté par Pritchard et ses collaborateurs permet d'obtenir deux valeurs importantes et très utiles pour la caractérisation génétique des échantillons analysés. Tout d'abord, en utilisant le modèle « admixture », le logiciel donne un estimé de la proportion (Q) du génome d'un échantillon provenant de chacun des groupes. Ainsi, en assumant qu'il y a deux populations, le logiciel indique la proportion du génome d'un individu provenant du groupe 1 et la proportion provenant du groupe 2. Si l'individu est pur et qu'il origine du groupe 1, une valeur se reprochant de 1 devrait être obtenue pour la proportion de son génome provenant du groupe 1 et une valeur se rapprochant de zéro devrait être obtenue pour la proportion de son génome provenant du groupe 2. De même, si l'individu est un hybride de première génération, son génome devrait être composé à 50% du groupe 1 et 50% du groupe 2. Cette valeur permet de déterminer si la composition génétique des individus est pure ou s'il y a un échange génétique par hybridation entre les groupes. Une deuxième valeur d'intérêt qui est estimée par STRUCTURE est la probabilité ($\ln P(D)$) d'un nombre de populations donné (K). En roulant le modèle pour plusieurs K différents, il est possible de déterminer le nombre de populations le plus probable. On réalise une Comparaison graphique. Pour chaque valeur de K on retient pour STRUCTURE la matrice Q correspondant a la simulation affichant le plus grand log likelihood parmi les 10 simulations. La matrice Q est analysée et comparée par une méthode exploratoire graphique. est triee sous Excel, de façon a classer dans un même cluster tous les individus ayant la même population d'origine principale. On considère comme population principale pour chaque individu celle pour lequel q est maximal. Puis on agence dans chaque cluster les individus en fonction de q décroissant. On représente graphiquement la répartition des individus dans les clusters, en plaçant tous les individus dans un histogramme Ou les ordonnées représentant les valeurs de q. Les

proportions q liées à chaque population d'origine sont marquées d'une couleur spécifique. On visualise graphiquement l'organisation des différents clusters inférés pour chaque K donné.

6.2.1 Etude d'association entre phénotype et génotype

Les données génotypiques et phénotypiques simulées sont soumises à un test d'association par régression logistique sous TASSEL 2.0.1 software (<http://www.maizegenetics.net/>). en prenant en compte la matrice de structure génétique optimale. La probabilité critique (p) associée aux couples site polymorphe/caractère est déterminée par le modèle linéaire général fixé (GLM) incluant les Q coefficients de population structurée comme covariates,

6.2.2 Diversité génétique

Les paramètres de la diversité génétique ont été estimés avec le logiciel powermarker version 1.2. Les paramètres d'évaluation de la diversité génétique qui ont été estimés sont les suivants : • Les fréquences alléliques, le pourcentage de loci polymorphes (P), le nombre d'allèles par locus ou richesse allélique (A), le contenu informatif du polymorphisme PIC et le taux d'hétérozygotie.

6.2.3 Isolement par la distance (test de Mantel)

Le test de Mantel (Mantel 1967), est utilisé pour mesurer et tester la corrélation linéaire entre deux matrices de proximité. En génétique des populations ce test est utilisé pour tester l'hypothèse d'isolement par distance en comparant une matrice des distances génétiques basées sur les données moléculaires des populations à une matrice de distances géographiques entre les sites d'origine correspondants (Timothy *et al.* 2000). Il est recommandé pour les petits échantillons ($n < 20$) d'effectuer des permutations pour la signification du test. L'hypothèse nulle est que le rapport observé entre les deux matrices de distance pourrait avoir été obtenu par n'importe quel arrangement aléatoire dans l'espace des observations. L'hypothèse nulle suppose que la pente de régression distance génétique/distance Géographique est nulle.

6.2.4 Test AMOVA et corrélations de la diversité génétique avec les conditions écogéographiques

La relation entre milieu d'origine des cultivars sélectionnés et leur capacité d'adaptation au milieu de culture et d'exploitation doit être régulièrement confirmée (Prosperi *et al.* 1993). Pour tester les relations entre les deux paramètres on a utilisé le test **AMOVA**. (Analysis of Molecular Variance), ce test permet d'estimer quelle proportion de la variabilité génétique de la population est due à : _ Les variations intergroupes, - Les variations à l'intérieur des groupes et Les variations inter-individus t .

Chapitre III : Résultats et Discussion

1. Evaluation et détermination des traits physiologiques, biochimiques et agromorphologiques impliqués dans la réponse à la sécheresse Et marquage moléculaire

Introduction

Au terme de notre étude, il en résulte différents résultats à travers les trois expérimentations relatifs au comportement des variétés de blé dur vis-à-vis du stress hydrique. Les résultats de la première expérimentation ont fait l'objet d'un article (Bousba et al, 2009) ; Sont ceux qui expriment l'évolution des variétés de blé dur sous différents niveaux d'alimentation hydrique et sous condition semi contrôlées. L'évaluation de comportement de ces variétés a été réalisée en se basant sur des paramètres physiologiques et rendement en biomasse. Ces derniers nous ont permis d'identifier les variétés présentant une meilleure tolérance dans les conditions déficitaires en eau.

Les résultats de la deuxième expérimentation sont plus explicites, consolidant l'aspect physiologique en additionnant en plus des paramètres : phénologiques, morphologiques, biochimiques et agronomiques et ce par un essai mené en plein champ sous condition pluvial et irrigué. Dans cette approche des différences hautement significatives ont été observées au sein du matériel végétal utilisé, ainsi que des réponses et des comportements différents ont été notés chez l'ensemble des variétés étudiées.

Les résultats de la troisième expérimentation, concernent l'approche moléculaire et l'association génétique entre variation phénotypique et génotypique. Les résultats concernant cette approche montrent que les marqueurs SSR utilisés sont significativement associés avec les traits étudiés. Cette approche représente la finalité et l'objectif de cette contribution qui consiste à intégrer l'ensemble des traits allant des caractères phénotypiques observés au champ jusqu'au locus du gène qui contrôle un caractère quantitatif.

1. Expérimentation.1 Evaluation et détermination des traits physiologiques impliqués dans la réponse des variétés de blé dur aux conditions limitantes en eau

1. 1 Photosynthèse nette (Pn)

Les résultats enregistrés montrent que la photosynthèse nette et la transpiration chutent d'une manière hautement significative ($p < 0.01$) avec l'intensité du stress hydrique chez toutes les variétés étudiées (**Tableau.7**). Les valeurs obtenues de la photosynthèse nette diffèrent d'une variété à l'autre (**Fig. 17**). Cette diminution est intense sous condition sévère de manque d'eau (12 % cc). Néanmoins, la variété introduite Gta dur présente la valeur la plus élevée de l'assimilation nette ($27,78 \text{ } \mu\text{mol}_{\text{CO}_2} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-2}$) comparée à la variété locale Djenah khotifa ($10,90 \text{ } \mu\text{mol}_{\text{CO}_2} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-2}$), qui semble la plus affectée par ce niveau de stress. A ce même niveau de stress sévère on note des effets d'interaction génotype x régime hydrique très hautement significative ($p < 0.001$) (**Tableau. 7**). Cependant, la diminution de l'activité photosynthétique chez des plantes stressées est citée par plusieurs auteurs comme étant l'une des causes majeures de la réduction de la croissance et de la productivité (Djekoun et Ykhlef, 1996; Wang et al, 1997). Cette diminution peut être influencée par des effets stomatique qui se traduisent par une faible diffusion et fixation du CO_2 , et /ou des effets non stomatiques. Ces derniers se distinguent par ; une faible efficacité des activités primaires de la photosynthèse, limitation de fonctionnement photochimique du PSII et/ ou une altération de l'appareil photosynthétique (Ykhlef et Djekoun, 2000). Ceci suggère que le stress hydrique peut exercer un effet inhibiteur sur les divers processus physiologiques impliqués dans le fonctionnement de la plante (Ziska L.H. et al, 1990). Par conséquent, peut induire une fermeture des stomates limitant ainsi la concentration interne du CO_2 (A. Kyparassis et al, 1995), qui s'exprime par une diminution de l'activité photosynthétique.

1. 2 la résistance stomatique (Rs)

Dans cette étude, la résistance stomatique développée par les six variétés est également significativement affectée par le régime déficitaire en eau ($p < 0.05$) (Tableau. 7). Les différences s'observent dès l'installation du stress hydrique et la résistance stomatique augmente au fur et à mesure que le stress devient plus sévère (12%cc). En effet, la variété Belioni présente la résistance stomatique la plus élevée ($250 \text{ m}^2 \cdot \text{s} \cdot \text{mol}^{-1}$) comparée aux autres variétés, suivi par la variété introduite Gta dur qui enregistre une augmentation moins importante (**Fig. 18**). Nos résultats, sont en accord avec ceux de (Sarda & al, 1992) qui a signalé que le blé dur sous condition de manque d'eau, semble favoriser la première stratégie

qui consiste à activer la fermeture des stomates et à limiter l'intensité de la transpiration. Donc , le maintien de la variété locale Beliouni d'une activité photosynthétique satisfaisante vis-à-vis du stress appliquée dans ce travail, malgré la diminution de la concentration interne en CO₂ due à la fermeture des stomates, peut se traduire par la mise en place de mécanismes non stomatiques comme moyen d'adaptation pour limiter les perte d'eau (Cochard H et al, 2002 ; Ykhlef et Djekoun, 2000).

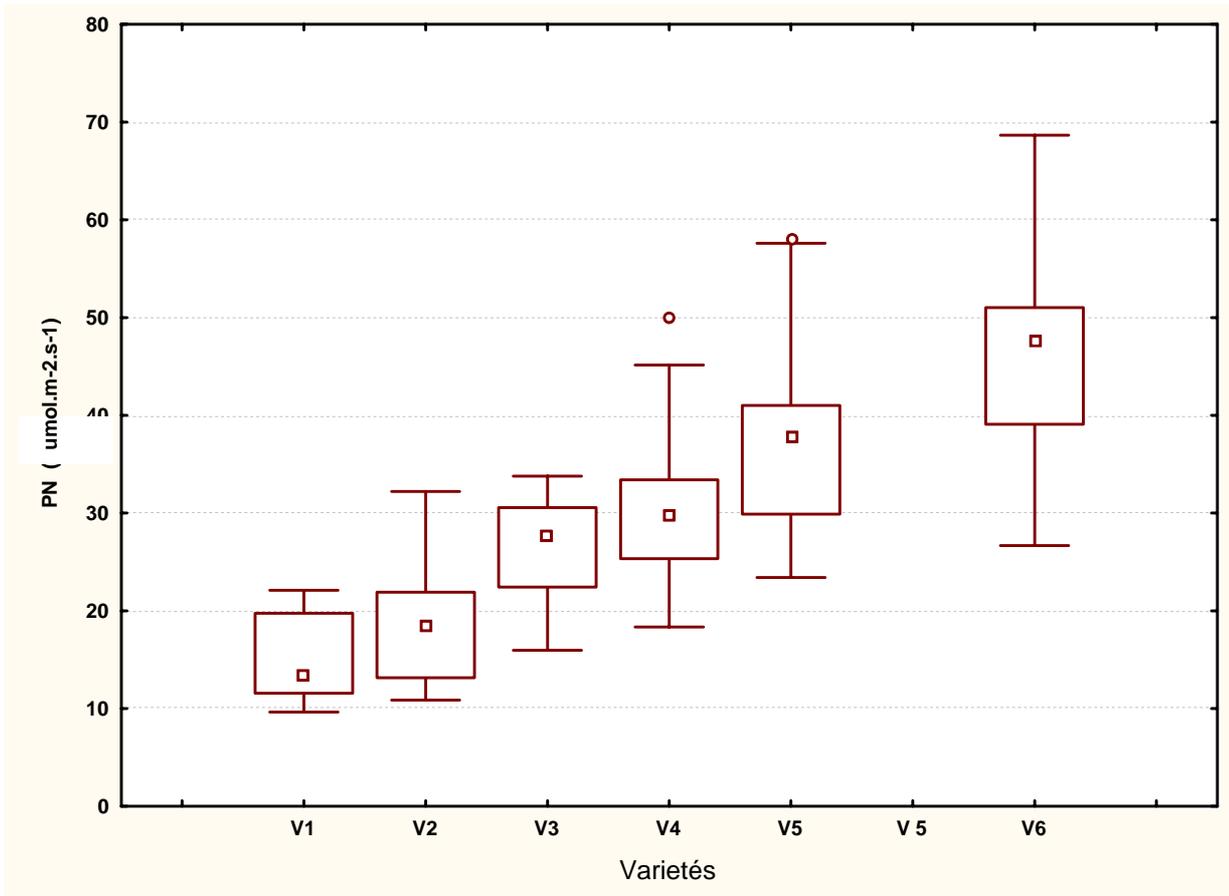


Figure. 17 : Variation de la photosynthèse nette ($\mu\text{mol CO}_2.\text{m}^{-2}.\text{S}^{-2}$) sous cinq niveaux de stress hydrique (Témoin , 80, 60, 40, et 12% cc.) chez six variétés de blé dur. V1: Djenah khotifa, V2: Guemgoumerkham, V3 : Rahouia, V4: Beliouni, V5: Vitron et V6: Gta dur

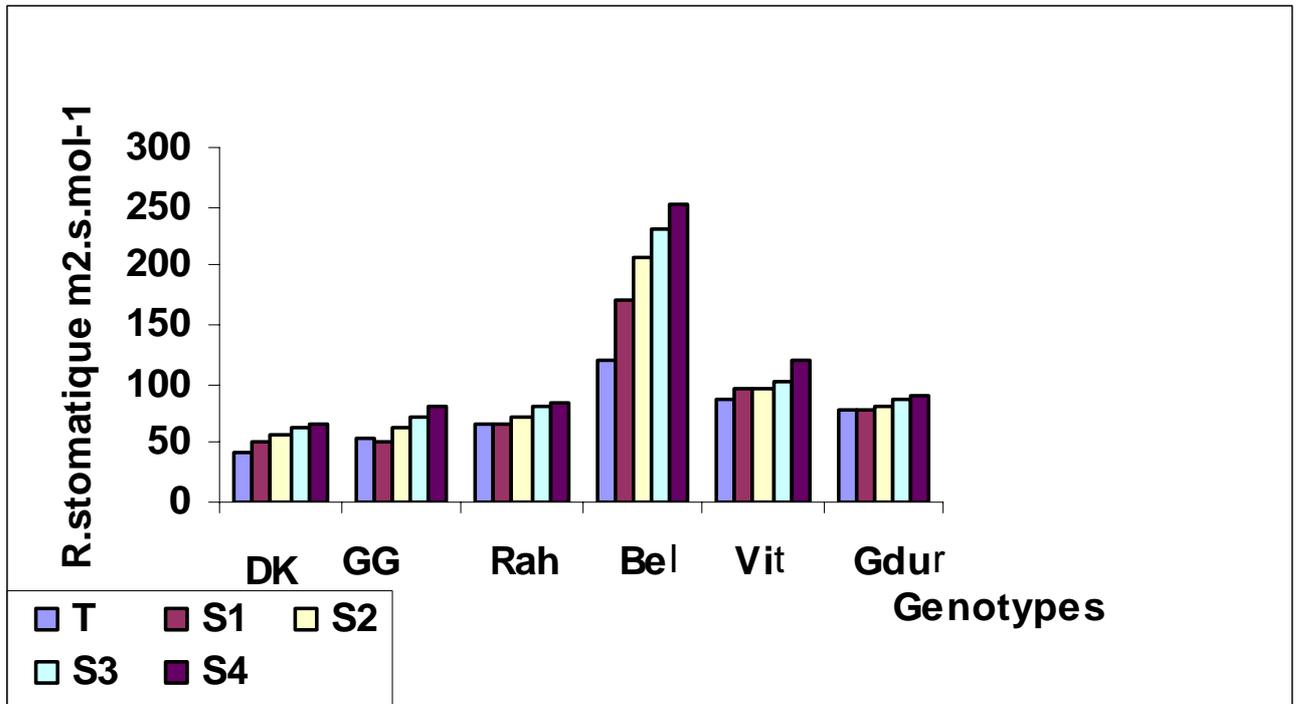


Figure.18 Variation de la résistance stomatique
 DK Djenah khotifa, GG Guemgoumerkham, RAH Rahouia, Bel Beliouni, Vit Vitron et
 Gdur Gta dur

Tableau. 7 Analyse de la variance des paramètres associés à l'état hydrique de la plante (la photosynthèse nette (*Pn*), Transpiration (*T*) et la production en matière sèche (*MS*).

Variables	Effet deficit hydrique				Effet variété				Effet interaction variété* effet hydrique			
	Ddl	MC	F	p	Ddl	MC	F	p	Ddl	MC	F	p
Photosynthèse nette $\mu\text{mol}_{\text{CO}_2} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-2}$	4	1243.59	258.29	0,000***	5	2080.06	432.06	0,000***	20	55.87	11.6	0,000***
Transpiration $\text{mmol}_{\text{H}_2\text{O}} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	4	98332.4	2317.29*		5	66582.2	1569.07*		20	4813.95	113.44	
Matière sèche (g)	4	244.89	660.17*		5	119.42	321.94*		20	4.82	12.98	

*, ** et *** Coefficient de signification au seuil 5% , 1% et 0.1%respectivement

1. 3 Transpiration

En outre, pour les différentes variétés la mesure de la transpiration présente une variabilité génotypiques importante, les différences sont hautement significative ($p < 0.01$) (tableau. 7). Les valeurs enregistrées, sous régime non déficitaire (100% cc), varient de 12,07 à 42,03 $\text{mmol}_{\text{H}_2\text{O}}\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ chez la variété locale Djenah khotifa et la variété introduite Gta dur respectivement. Tandis que chez les stressées et sous les différents niveaux de stress hydrique appliqué, les génotypes testés accusent des diminutions importantes comparativement aux plantes témoins (100% cc), (Tableau. 8). Donc sous une sécheresse progressive on décèle une baisse plus importante de la transpiration allant jusqu'à 50% chez les variétés Djenah khotifa et Beliouni. Ainsi que l'analyse de la variance, révèle l'effet stress et génotype très hautement significatif (Tableau. 7). Nos résultats montrent que la transpiration regresse sous condition limitante en eau afin de réduire les pertes en eau ; c'est ce qui a été démontré par plusieurs recherches notamment ceux de (Zhao et al, 2008; Bousba. et al., 2006b). Cette diminution de la transpiration reflète l'effet de la sécheresse qui peut se traduire, selon la stratégie adaptative de l'espèce ou de la variété, par des modifications morphologiques pour augmenter l'absorption d'eau et/ ou pour diminuer la transpiration. Ces modifications affectent les parties aériennes comme les parties souterraines de la plantes (Abadi et al , 2003).

1. 4 Taux de chlorophylle

La variation du taux de chlorophylle sous différents niveaux de stress hydrique apporte une information complémentaire sur le comportement des variétés vis-à-vis à la contrainte hydrique. les variétés locales Djenah khotifa et Guemgoum rkham présentent sous régime hydrique sévère une chute significative considérable du taux de chlorophylle ($4,02 \pm 0,33$ et $6,57 \pm 0,44$ U.spad respectivement) contrairement aux variétés introduites Vitron et Gtadur , qui maintiennent des taux plus élevées allant de 17,07 à 16,88 (U.SPAD) respectivement (Fig. 19). Ces résultats confirment les observations de (Mokhtar et al, 2009 ; Cha-um et Kirdmanee. , 2008; Rong-hual et al, 2006) , qui montrent que le manque d'eau induit une chute de la teneur en chlorophylle dans les feuilles. Des corrélations positives ($r = 0.92$) ont été enregistrées avec la photosynthèse nette PN ($p = 0.00$) (Figure. 20)

1. 5 Matière sèche MS

En condition de bonne alimentation hydrique la teneur en matière sèche est significativement plus importante ($p < 0.01$) qu'aux conditions de secheresse, on remarque également que les effets d'interaction (géotypes x régime hydrique), sont eux aussi hautement significatifs, cela signifie que les variétés étudiées diffèrent dans leurs comportements vis-à-vis de la secheresse. (Xu et al , 1995).

En effet la relation liant les valeurs de la Pn et de la Matière sèche , montre que ces deux paramètres sont linéairement liés ($r = 0.89$) avec un $p = 0.000$ (**Figure. 21**) avec des différences forte ($p < 0.05$) au niveau de pente de droite de regression (pearson). Selon le test Newman keuls seuil 5% La variété Gta dur se classe en première avec la plus importante valeur de matière sèche de l'ordre de 19.32 g , et la dernière valeur a été donnée par la variété Djenah khotifa avec 8.15 g de MS . Donc ces résultats montrent que la contrainte hydrique favorise la synthèse de la matière végétale, ce qui est en accord avec ceux rapportés par (Zhang et al, 2003 ; Bousba. ., 2006b) montrant que lorsque le stress devient sévère la production de la matière sèche ralentit.

Tableau. 8 Effet du stress hydrique sur la transpiration en ($\text{mmol}_{\text{H}_2\text{O}}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)

paramètres	Transpiration (T) $\text{mmol}_{\text{H}_2\text{O}}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$				
Traitements	T	S1	S2	S3	S4
Génotypes					
DK	12,07±0,71c	11,80±4,7c	10,65±0,32 c	6,69±7,4a	5,46±1,50 a
GGR	17,16±0,59 cd	16,13±4,04cd	14,48±1,34cd	8,04±1,16 b	6,49±0,82 a
RAH	20,13±1,02 e	19,64±8,54 cd	20,47±1,73 e	12,14±1,72 c	7,79±4,45b
BEL	30,43±1,7f	28,55±2,15 e	18,05±5,87cd	10,84±1,62 c	9,86±1,11b
HOG	35,39±10,25g	30,62±1,00 f	29,26±4,66 e	12,58±2,07c	10,92±1,24c
GDUR	42,03±9,98h	30,84±4,90g	28,99±1,04e	20,64±1,5e	12,13±1,69c

Temoin S1 80% S2 60% S3 40% et S4 12% cc,
DK Djenah khotifa, **GG** Guemgoumerkham, **RAH** Rahouia, **Bel** Beliouni, **Vit** Vitron **Gdur** Gta dur
 a, b, c d,..... Groupes homogènes données par le test Newman keuls seuil 5%.

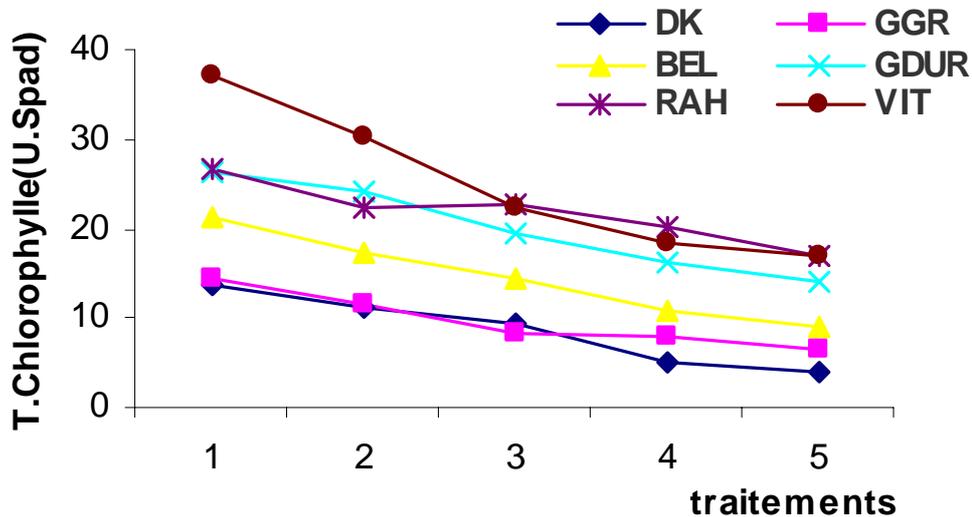


Figure.19 Variation du taux de chlorophylle sous différents niveaux de stress hydrique

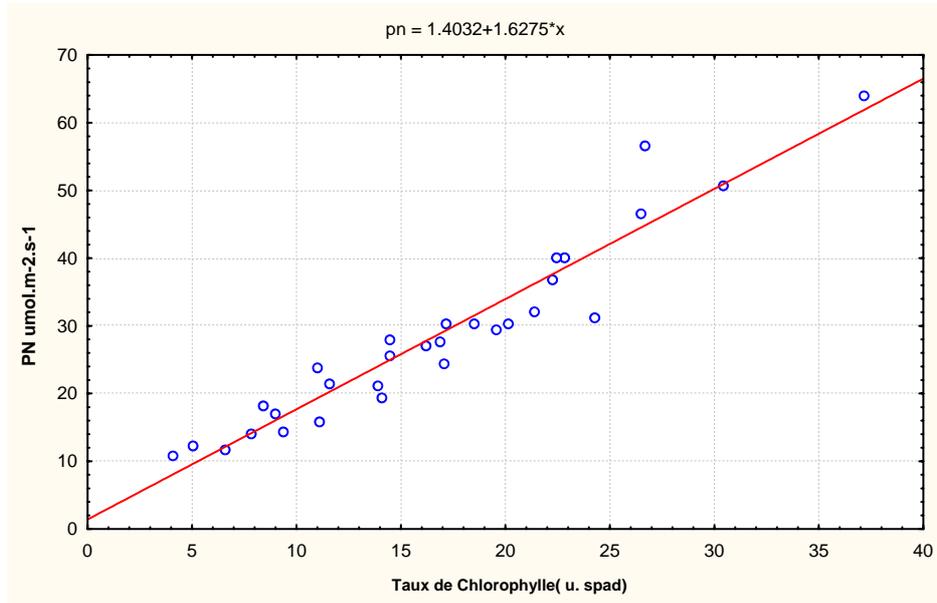


Figure. 20 Relation entre le taux de chlorophylles et la photosynthèse nette **Pn**

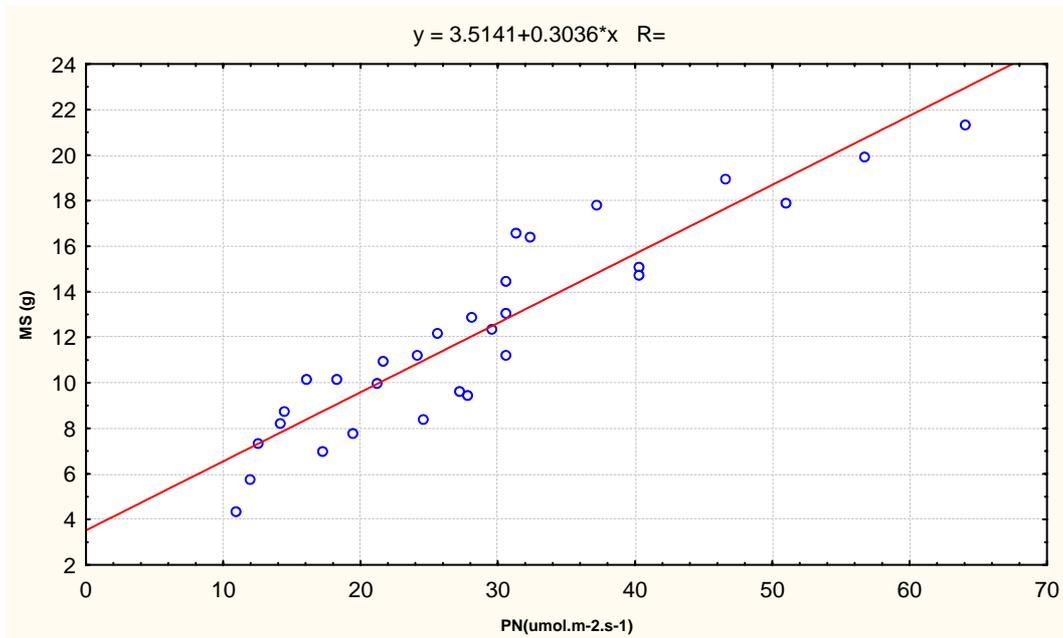


Figure. 21 Relation entre la photosynthèse nette **Pn**($\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{S}^{-2}$) et la matière sèche **MS(g)**

1. 6 L'efficacité de l'utilisation d'eau

L'efficacité de l'utilisation d'eau estimée par le rapport (P_n / T), varie selon les génotypes et évolue de façon similaire en fonction des régimes hydriques appliqués. En effet sous conditions de bonnes alimentations hydriques (100%), les variétés étudiées présentent une efficacité de l'eau utilisée différente ; les valeurs de cette dernière varie entre 1.50($\mu\text{molCO}_2/\text{mmolH}_2\text{O}$) enregistrée chez la variété locale Guemgoum Rkham et de 1.75 ($\mu\text{molCO}_2/\text{mmolH}_2\text{O}$) chez la variété Djenah khotifa. Cette variabilité est maintenue lors de l'application du stress hydrique et augmente avec l'intensité de ce dernier (Zarei., 2006). Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par (Ykhlef, 2001; Bousba. et al., 2006a et Kochler ,2000). Ainsi, les valeurs enregistrées sous stress sévère dans cette étude (12 %cc), s'étalent de 1.75 ($\mu\text{molCO}_2/\text{mmolH}_2\text{O}$) notée chez la variété Guemgoum'r'kham, 1.87 ($\mu\text{molCO}_2/\text{mmolH}_2\text{O}$) chez la variété Beliouni à 2.29 ($\mu\text{molCO}_2/\text{mmolH}_2\text{O}$) notée chez la variété Gtadur. Ainsi et selon le test de Pearson une corrélation positive est notée entre la photosynthèse nette et l'efficacité de l'utilisation d'eau ($r= 0.55$) (**Fig. 22**) enregistrée chez la variété Beliouni., cette corrélation est plus importante et qui atteint 0.65, 0.75, 0.82 et 0.91 respectivement chez les variétés Djenah khotifa Rahouia, Vitron et Gtadur (**Fig. 22 A, B, C, D et E**).

Il est clair que les paramètres liés à l'efficacité de l'utilisation de l'eau et de tolérance à la sécheresse ont une signification agronomique déterminante pour la production du blé dur. Ces paramètres sont contrôlés par plusieurs mécanismes physiologiques (Clarke et al. ,1989) qui intègrent au niveau foliaire les effets stomatiques et non-stomatiques (Bjorn et al., 1992) et au niveau de la plante les capacités de translocation des assimilats photosynthétiques vers l'épi (Helliker et Martin , 1997). Le terme "efficacité de l'eau utilisée " constitue donc un facteur principal de la tolérance au manque d'eau. En condition de contrainte hydrique (12%cc), une variabilité génotypique de l'efficacité de l'eau utilisée est observée au sein des génotypes étudiés (Johnson et al., 1995, Ykhlef et al ,1999). Cette variabilité génotypique exprime le potentiel de production de la matière sèche en fonction de l'eau disponible. Elle dépend du niveau d'imbibition de la plante, lequel résulte de l'équilibre entre l'absorption et la transpiration (Clarke et al., 1989).

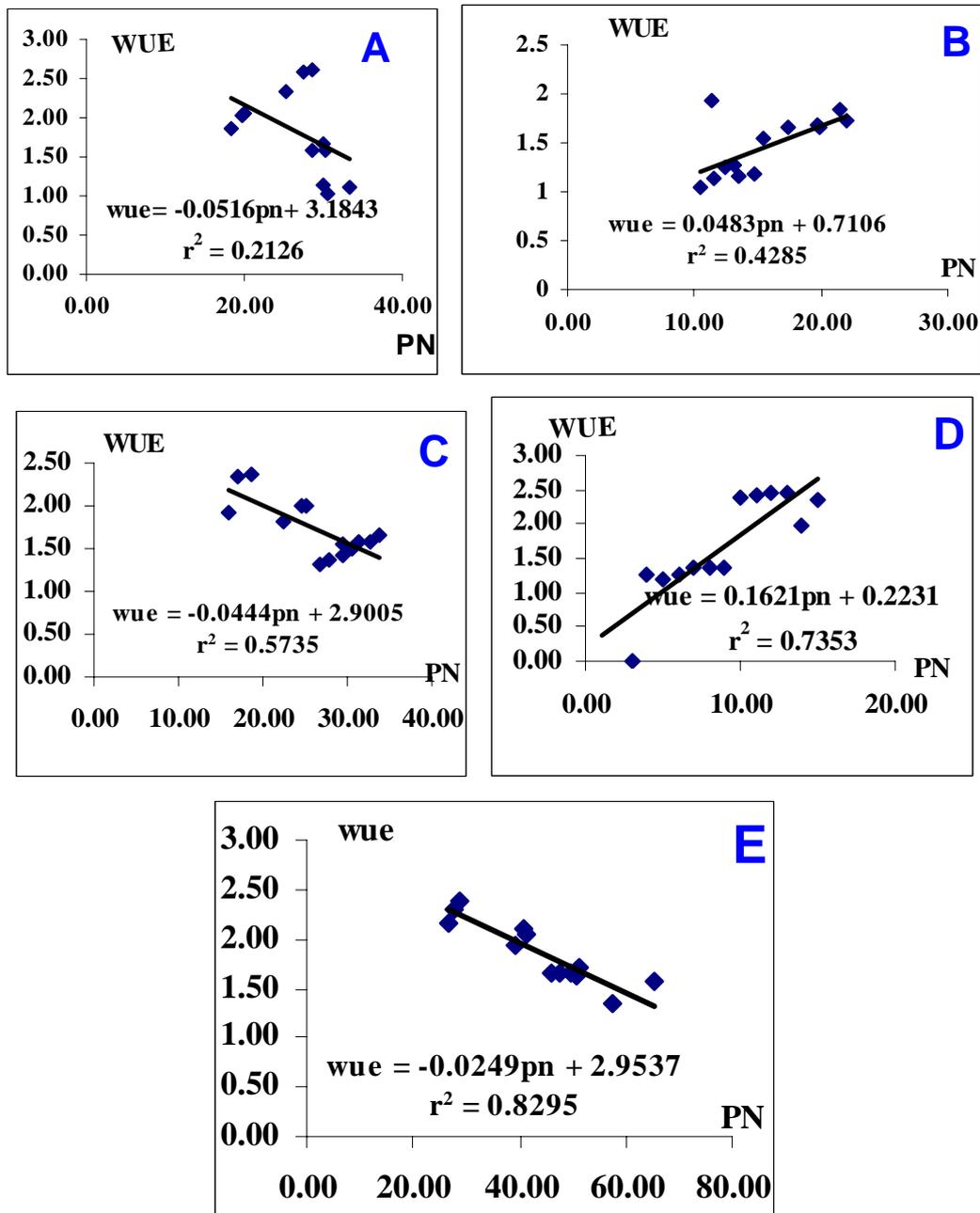


Figure. 22 Relation entre l'efficacité de l'eau utilisée WUE et la photosynthèse nette Pn ($\mu\text{mol CO}_2.\text{m}^{-2}.\text{S}^{-2}$) chez les variétés : A Vitron , B Guemgoum'r'kham, C: Beliouni, D: Rahouia, E: Gta dur

2. Experimentation. 2 Détermination et évaluation des traits biochimiques, des paramètres liés à l'état hydrique de la plante et le rendement et ses composantes.

2.1. Caractères phénologiques

2.1.1. Durée semis- épiaison

La date d'épiaison, souvent utilisée comme un indicateur de précocité est considéré comme un important caractère qui influence les rendements des céréales, surtout en zones où la distribution de la pluviométrie est la variabilité des températures affectent la longueur du cycle de développement (Attia. F, 2007). Le stade épiaison est noté lorsque 50% des épis sortent de leur gaine. Cette phase est observée sur une période allant de 138 à 142 jours dans le premier essai, dont les variétés Gta dur et Vitron enregistrent la plus courte durée avec 138 jours suivie par la variété Beliouni (**figure. 23**) avec une durée de 139 jours. La plus longue durée est observée chez la variété Djenah khotifa avec 142 jours, suivi par les variétés Rahouia et Guemgoum R'kham qui présentent une durée de 141 jours. Dans l'essai pluvial, L'ensemble des variétés testées enregistrent, des périodes plus ou moins basses que celles du premiers essai. Les variétés les plus précoces sont : Vitron et Gta dur avec une durée de 131 jours, suivies par la variété : Beliouni qui présentent une durée de 135 jours. L'analyse de la variance, révèle un effet variétés ainsi qu'un effet traitement et variété très hautement significatif (**Annexe. 5**)

2.1.2. Durée semis- maturité

L'analyse de ces résultats nous a permis de mettre en évidence la précocité de certaines variétés, notamment les variétés : Vitron et Gta dur avec une durée de 166 jours pour le premier essai et de 162 jours pour le deuxième essai, et la tardivité des autres variétés tel que : Beliouni, Rahouia et Guem goum rkham avec 169 à 171 jours en condition irrigué et de 166 à 169 jours pour le deuxième essai sans irrigation. L'analyse de la variance révèle un effet variété et traitement très hautement significatif et avec un effet interaction variété et traitement non significatif (**Annexe. 5**). nos résultats sont en accord avec Laing et Fisher, (1977), qui confirment la relation qui existe entre la longévité du cycle de développement de la plante et le rendement. Ainsi et selon (Gebeyhon et al.1982) cité par Bouzerzour, (1998) ; une période végétative plus longue a un effet positif sur le rendement en grain à travers la fertilité de l'épi et le poids de mille grains. En effet, la durée de la période d'accumulation des

réserves de la tige dépend de la date de l'anthèse : un retard d'un jours à la floraison augmente la quantité des réserves glucidiques. (Triboi et Ollier, 1991). La précocité constitue donc un mécanisme qu'utilise la plante pour s'échapper à la sécheresse. Un développement phénologique rapide avec une floraison précoce permet d'éviter cette sécheresse, mais risque d'exposer la plante à d'autres conditions défavorables.

En conclusion pour ce paramètre et à la lumière des résultats obtenus et présentés par la figure. 24 les variétés étudiées recouvrent une large gamme de précocité on distingue:

- des variétés précoces (durée semis – épiaison égale à 131 jours dans le traitement pluvial et à 138 jours dans le traitement irrigué), c'est le cas des géotypes Vitron et Gta dur.
- des variétés moyennement précoces (durée semis – épiaison entre 134 et 135 jours dans le traitement pluvial et de 139 jours dans le traitement irrigué, c est le cas de la variété : Beliouni.
- Des variétés tardives (durée semis – épiaison entre 139 à 141 jours dans le traitement pluvial et entre 141 à 142 jours dans le traitement irrigué), il s'agit de la variété : Rahouia , Guem goum r'kham et Djenah khotifa.

On distingue aussi que les variétés les plus tardives à l'épiaison sont aussi les plus tardives à maturité , L'irrigation retarde la date de maturité de l'ensemble des géotypes étudiés(en moyenne de 2 jours).

2.2. Paramètres morphologiques

2.2.1. hauteur de la plante « H.P » (cm)

ce paramètre présente une grande variabilité , certains géotypes sont à taille très haute supérieur à 120cm (**Tableau . 9**) ; c'est le cas de la variété locale Djenah khotifa , Rahouia et Guem goum R'kham ; d'autres sont à paille courte , tel que les variétés introduites Gta dur et Vitron. La hauteur du chaume varie entre les variétés et entre les deux essais, elle fluctue entre (126,33±8.50 cm et 76.67± 2.89 cm) pour le traitement irrigué, et entre (125,67± 6.03) cm et (56,67±02,33) cm pour le traitement non irrigué, Les valeurs maximales et minimales sont enregistrées pour les deux essais (irrigué et non irrigué) chez les variétés Djenah Khotifa et Gta dur respectivement.Selon Gate et al, 1990, la hauteur des tiges enregistre de nettes diminutions, en cas de déficit hydrique, suivant les variétés. La réduction de la taille contribue à la réduction de la sensibilité à la verse et conduit à une

augmentation de l'indice de récolte ; les sélectionneurs ont longtemps admis que les variétés de céréales les plus tolérantes étaient les variétés à paille haute, pour le fait qu'une paille élevée du chaume est souvent associée à un système racinaire profond (Subbiah et al. 1968), et donc une meilleure aptitude à extraire l'eau du sol. Les tiges sont physiquement courtes, leur capacité d'emmagasiner est plus petite et leur susceptibilité au stress environnemental est plus grande (Pheloung et Siddique, 1991). Par contre, de nombreuses études (Ali Dib et al, 1990 ; Pheloung, 1991 ; Bouzerzour, 1993) ont montré que les variétés de blé à paille courte ont une bonne adaptation et une meilleure productivité en zones sèches en combinant une tolérance élevée à la sécheresse et un indice de récolte (I.R) élevé. L'analyse de la variance à plusieurs variables ou analyse de la dispersion (MANOVA) a essentiellement pour objet de comparer les moyennes de plus de deux populations pour plusieurs variables. Ce test montre qu'il existe des différences très hautement significatives entre les variétés et pour les deux sites irrigué et sans irrigation (**Tableau. 10**).

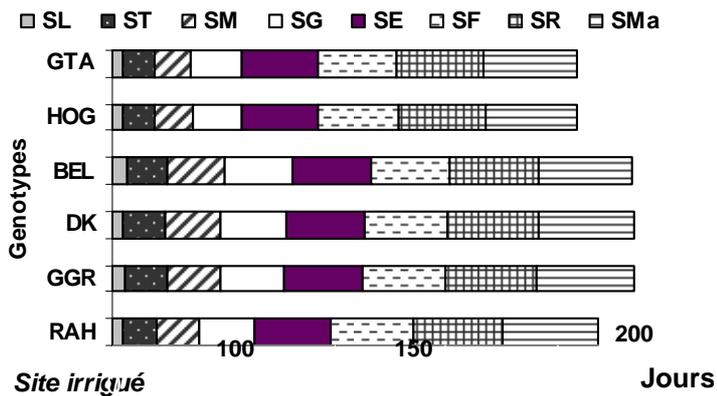


Figure. 23 Caractères phénologiques chez les variétés étudiées

SL: semis- levée , ST : semis- tallage , SM: semis- montaison , SG: semis- gonflement , SE: semis- épiaison , SF: semis- floraison , SR: semis- remplissage des grains, SMa: semis- maturité

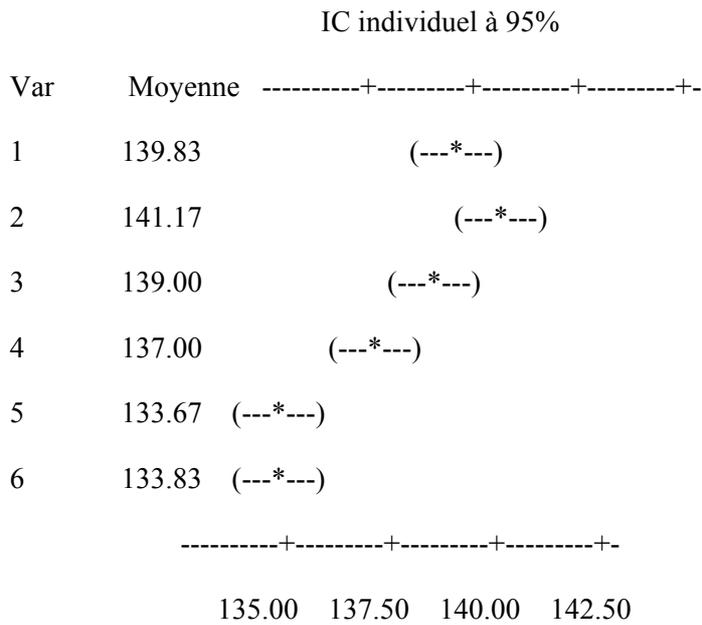


Figure. 24 Classement des variétés selon la longueur du cycle à l'épiaison

1.Guemgoum r 'khem, 3.Rahouia et 2.Djenah khotifa 5.Vitron et 6.Gta dur 4.Beliouni,

Tableau. 9 variation de la hauteur de la plante						
chez l'ensemble des variétés étudiées						
<i>Variable</i>		<i>Hauteur des plantes (cm)</i>				
Variétés	Trait	Paramètres statistiques				
		\bar{x}	var	Et	$x_{\min} - x_{\max}$	P
Rahouia	S I	126,33	72,33	8,50	118,00-135,00	0,12 ^{ns}
	S II	92,00	559,00	2,64	75,00-119,00	
Guemgoum	S I	121,00	01,00	1,00	120,00-122,00	0,05*
R'kham	S II	99,33	104,33	1,21	92,00-111,00	
Djenah	S I	145,33	20,33	4,51	141,00-150,00	
Khotifa	S II	125,67	36,33	6,03	120,00-132,00	
Vitron	S I	79,00	03,00	1,73	77,00-80,00	
	S II	56,67	02,33	1,53	55,00-58,00	
Béliouni	S I	118,33	33,33	5,77	115,00-125,00	
	S II	97,33	72,33	8,50	91,00-107,00	
Gta dur	S I	76,67	08,33	2,89	75,00-80,00	0,04*
	S II	62,33	16,33	4,04	60,00-67,00	
ns; non significatif , *; significatif à 5%						

2.2.2. La longueur de l'épi « L.E » (cm)

Présente elle aussi une grande variabilité génétique, on décèle une variation inter variétale et entre les deux traitements. Dans le traitement irrigué, les valeurs varient entre (7.50 ± 0.50) cm et (5.00 ± 0.50) cm, dont la valeur maximale est enregistrée chez la variété Djenah Khotaifa, tandis que la valeur minimale est enregistrée chez la variété Beliouni (**Annexe.6**). Dans le traitement non irrigué les valeurs enregistrées par les variétés étudiées, montrent une diminution par rapport aux valeurs mentionnées dans le 1^{er} essai, cependant la variété Gta dur enregistre une valeur de (6.50 ± 0.00) cm, ainsi que la variété Béliouni enregistre une valeur de 4.50 ± 0.00 cm, suivie par la variété locale Guemgoumr'kham qui enregistre avec une valeur de (4.83 ± 0.57) cm. L'analyse de la variance a révélé une différence très hautement significative entre variétés et un effet stress significatif (**Annexe.6**). Le rôle de l'épi selon Fabrero et al. 1990 est d'assurer une activité photosynthétique importante au cours du remplissage du grain et sa contribution à la photosynthèse de la plante entière serait comprise entre 13% et 76% (Biscoe et al. 1976). Cependant, le faible rendement en grains des populations à épis longs peut donc s'expliquer par la stérilité de leurs épillets, tandis que les rendements élevés des populations à épis courts s'expliquent par une fertilité élevée des épillets (Tribio et Ollier, 1991).

2.2.3. la longueur du col de l'épi « L.C.E » (cm)

Les valeurs mesurées varient d'une manière prononcée entre les différentes variétés testées et les deux traitements (irrigué et non irrigué). Ce caractère est influencé négativement par le stress hydrique. La longueur moyenne de cet organe passe de $(19,94 \pm 0.16)$ cm dans l'essai avec irrigation à $(3,66 \pm 0,150)$ cm dans l'essai pluvial soit une baisse de 81.7% (**Annexe.6**). Cependant, dans le 1^{er} essai (irrigué) la longueur du col de l'épi était maximale chez la variété Rahouia $(18,87 \pm 3,33)$ cm, contrairement à la variété Vitron qui enregistre la valeur la plus faible $(10,10 \pm 0.37)$ cm. Alors que pour le deuxième essai, on décèle chez l'ensemble des variétés testées des valeurs moyennes de la longueur du col de l'épi plus basses par rapport au premier essai, avec une moyenne de (13.37 ± 0.01) cm notée chez la variété Djenah khotaifa et une valeur minimale égale à (3.66 ± 1.15) cm, observée chez la variété Vitron (**Annexe.6**). La comparaison, entre sites, pour ce paramètre mesuré et pour les génotypes étudiés séparément a été effectuée en utilisant l'ANOVA. Pour l'ensemble des génotypes étudiés, cette analyse montre qu'il existe une différence très hautement significative dans les deux sites irrigué et pluvial (**Annexe.6**).

Tableau. 10 Comparaison statistique (MANOVA) de la hauteur du chaume mesurées chez les variétés de blé dur étudiées dans les deux sites irrigué et pluvial

Test statistiques	Valeurs des tests	Fobs	P
Wilk's	0.01123	18.560	0,000***
Hotelling-Lawley	54.92935	54.922	0,000***
Pillai's	1.36073	5.109	0,001**

Tableau. 11 Résultats de l'ANOVA de la comparaison entre les variétés étudiées pour les paramètres morphologiques mesurés dans les deux sites (**I**: irrigué et **NI**: sans irrigation) . (***) : $P \leq 0,001$.

variables	<i>Paramètres descriptifs</i>									
	DDL		Sce		CM		Fobs		P	
	I	NI	I	NI	I	NI	I	NI	I	NI
Hauteur de la plante (cm)	5	5	11311.1	9858.4	2262.2	1971.7	98.12	14.96	0,000***	0,000***
longueur de l'epi (cm)	5	5	12.1111	9.7361	2.4222	1.9472	9.69	5.01	0.001	0.010
longueur du col de l'épi (cm)	5	5	269.155	21.72	53.831	57.781	21.72	171.51	0,000***	0,000***
longueur des barbes (cm)	5	5	19.3219	3.9209	3.8644	0.7842	11.32	3.12		0.05**
surface foliaire (cm²)	5	5	49.5576	30.2813	9.9115	6.0563	41.99	16.20		0,000***

2.2. 4. la longueur de la barbe « L.B » (cm)

Selon (Weyrchi, 1995), Les barbes sont des feuilles rudimentaires ayant une fonction photosynthétique . Nos résultats recueillis pour ce paramètre montrent une différence hautement significative entre les variétés étudiées et entre les deux traitements. Dans le traitement irrigué, les valeurs varient entre (11,06 ±0,60) cm et (8,41 ±0,45) cm. Respectivement chez la variété Rahouia et la variété Gta dur (**Annexe.6**). Tandis que dans l'essai non irrigué ; on note chez l'ensemble des variétés testées une diminution des valeurs de la longueur des barbes par rapport au premier essai, cependant, la valeur la plus élevée est enregistrée chez la variété GuemGoumR'kham avec (8,66 ±0,57) cm. En revanche la valeur la plus faible est représentée par la variété Gta dur avec une longueur égale à (7,22 ±0,47) cm. L'analyse de la variance a révélé une différence très hautement significative entre variétés, un effet stress très hautement significatif pour le premier essai et significatif pour l'essai sans irrigation (**Annexe.6**). De nombreux travaux réalisés sur une large gamme de géotypes semblent confirmés le rôle de la barbe dans le remplissage du grain en condition de déficit hydrique, (Grignac, 1965 ; Ali Dib et al. 1990). Il semble que chez le blé dur, comme l'ont soulignés (Ali Dib et al. 1990) ; que la longueur des barbes est un paramètre morphologique lié à la tolérance au déficit hydrique.

2.2.5. la surface foliaire « S.F » (cm²)

Mesurée sur toutes les variétés de l'essai, ce paramètre varie entre 16,56cm² et 09,30 cm² . En conditions irriguées, les feuilles étendard les plus larges sont observées chez la variété Gta dur (16,56 ± 0,21)cm² , suivi par la variété Vitron (14,73 ± 0,06) cm² , Beliouni (13,18 ± 0,09) cm² et GuemGoumR'kham (12,87± 0,78) cm² , cependant les plus étroites sont observées chez les variétés Djenah khotaifa et Rahouia de l'ordre de (11,78± 0,69) et (12,02± 0,53) cm² respectivement. En ce qui concerne le traitement sans irrigation, on note une diminution significative de cette dernière chez l'ensemble des variétés étudiées (**Annexe.6**) , cependant les feuilles étendard les plus larges sont observées chez les variétés Gta dur (13,22 ± 0,35cm²) , Vitron (11,34 ± 0,57cm²) et Beliouni (11,29 ± 1,15cm²), tandis que les plus étroites sont observées chez les variétés Djenah Khotaifa et GuemGoumR'kham de l'ordre de (09,30 ± 0,34cm²) et (09,78 ± 0,23cm²) respectivement. Le tableau. 11 de l'analyse de la variance ANOVA, montre l'existence de différence très hautement significative entre variétés, un effet stress très hautement significatif.

Pour rechercher éventuellement des groupes homogènes, nous avons utilisé le test SNK (Newman-Keuls). Les résultats obtenus chez l'ensemble des géotypes étudiés montrent que les valeurs moyennes de la surface foliaire sont différentes dans les deux sites, ce qui permis d'obtenir des groupes homogènes regroupant pour l'essai non irrigué les variétés Djenah khotifa , Guemgoumr'kham et Rahouia affectés au premier groupe(A), Tandis que le groupe B contient les variétés Beliouni et Vitron. Dans les conditions d'irrigation ce test nous a permis d'obtenir cinq groupes homogènes le premier groupe contient les variétés Djenah Khotaifa et Rahouia, suivi par le groupe contenant la variété GuemGoumR'kham , le troisième groupe contient la variété Beliouni, suivi par la variété Vitron et en dernier la variété Gta dur avec une moyenne de surface foliaire plus élevée a celle des autres variétés(16.56 cm^2) (Annexe.7). La réponse de blé dur au manque d'eau se manifeste par des transformations qui ont été remarquées au niveau des parties aériennes .En effet les plantes stressées subissent un retard dans la croissance végétale. Ces résultats sont en accord avec ceux de Rawson et al, 1977, montrant que la réponse de la plante à la sécheresse prend beaucoup de formes, parmi les quelles, la plus visibles est la réduction de la surface foliaire , ainsi et selon Selon (Blum, 1988; Attia F, 2007 et Monneveux ,1992) La surface foliaire est un caractère morphologique d'adaptation. La durée de vie de la feuille étandard estimée par l'évolution de sa surface verte apparaît comme révélateur du niveau de fonctionnement de l'appareil photosynthétique en présence de déficit hydrique (Austin ,1987 ; Chartzoulakisa et al. 2002 , Monneveux, 1991).

2.3. Rendement et composantes du rendement

2.3.1. Nombre de talles (NT/m²), nombre de plants (NP /m²) et Nombre d'épi par mètre carré (NE/m²)

Le tableau. 12 illustre la variation du caractère Nombre de talles (NT/m²)dans les deux essai et pour chaque variété; le nombre de talles est variable d'un site à un autre et il est influencé par la carence en eau , ce qui nous démontre le tableau 12 , dans certains cas des valeurs maximales ce qui est le cas de la variété Gta dur avec ($463,00 \pm 10,81$) talle /m², contrairement à la variété Guem GoumR'kham, qui affiche une valeur minimale de l'ordre de ($244,67 \pm 31,62$) talles /m². Dans le deuxième essai, l'ensemble des variétés testées présentent des valeurs plus ou moins basses que le premier essai, sauf pour les variétés Rahouia et GuemGoumR'kham qui présentent des valeurs supérieures aux celles du premier essai.La valeur maximale est enregistrée par la variété Beliouni avec ($407,33 \pm 3,51$) talles/m² tandis que, la valeur minimale est enregistrée par la variété GuemGoum'kham ($315.00 \pm 6,13$)

t/m². L'analyse de la variance, révèle l'existence d'une différence génotypique très hautement significative, ainsi que d'un effet stress hautement significatif chez l'ensemble des variétés à l'exception la variété GuemGoum'kham qui présente une différence entre sites non significatives (**Tableau. 12**). La matrice des corrélations (**Annexe. 8**) révèle l'existence d'une corrélation positive de ce caractère avec le nombre d'épi par mètre carré (0.76) et le rendement en grains (0.67) ainsi de 0.84 avec l'indice de récolte.

En parallèle, le caractère nombre de plants par mètre carré dans les deux sites (irrigué et sans irrigation) décèle une variation hautement significative chez l'ensemble des variétés à l'exception la variété Rahouia et Vitron qui ne semble pas affecté par le manque d'eau (Tableau.). Ce caractère est corrélé positivement avec les traits morphologiques tel que la longueur du col de l'épi et la longueur de barbe (0.71 et 0.70) respectivement. Dans notre étude, le nombre d'épi par mètre carré semble aussi affecté par le déficit hydrique ; avec un effet stress significative chez La majorité des variétés étudiées (**Tableau. 12**). En effet, La moyenne de ce paramètre passe de (558,33±3,31) E/m² dans l'essai irrigué à (240,667±38,94) E/m² dans l'essai pluvial respectivement chez la variété Gta dur et Guemgoum r'kham (**Tableau. 12**). De fortes corrélations ont été révélés pour ce paramètre avec le poids de mille grains(0.80), le rendement en grains (0.90) et l'indice de récolte (0.86). Il ressort de cette étude que ces composantes sont déterminantes pour le rendement en grain . Cependant, ces paramètres sont sensibles aux facteurs du milieu notamment le manque d'eau.

Certains auteurs ont établi des corrélations entre un nombre élevé de talles par mètre carré et le rendements (Turner et al., 1994). Selon (Innes et al. 1981), le nombre d'épi peut être considéré comme étant le produit de deux variables : le nombre des talles produits et la proportion des talles qui vont survivre pour donner des épis.

Selon (Gate et al, 1992), le nombre d'épi subira une forte diminution si le déficit hydrique intervient durant la phase de montée de l'épi . En effet, il est plus courant d'observer, en cas de déficit hydrique, des réductions d'environ 10% à 25% du nombre d'épi qui peuvent être compensées par des composantes ultérieures (Hochman, 1982 et Deumier, 1987). Cette compensation dépend du parcours d'élaboration du rendement et des processus physiologiques liés aux génotypes : durée de vie des feuilles, taux de mobilisation des assimilés (Innes et Blackwell ,1981 ; Gate et al .1990).

Tableau. 12 Comparaison statistique (test t de Student) des composantes du rendement, obtenus chez les variétés étudiées des deux traitements (Irrigué et non irrigué)

Variables		nombre de talles/m2					nombre de plants/m2					nombre d'épi/m2				
variétés	Trait	Paramètres statistiques														
		\bar{x}	Var	Et	$\bar{x}_{\min}-\bar{x}_{\max}$	p	\bar{x}	Var	Et	$\bar{x}_{\min}-\bar{x}_{\max}$	p	\bar{x}	Var	Et	$\bar{x}_{\min}-\bar{x}_{\max}$	p
Rahouia	S I	310.00	28.00	5.29	306-316	0,0001***	276.67	1633.33	4.41	240-320	0,47 ^{ns}	386.00	228.00	5.10	370-400	0,046*
	S II	405.33	09.33	3.06	402- 408		253.33	933.33	30.55	220-280		338.67	341.33	8.48	328-360	
Guemgoum R'kham	S I	244.67	1000.33	31.63	219 -280	0,095 ^{ns}	270	975	31.22	235-295	0,021*	290.00	475.00	2.79	265-305	0,12 ^{ns}
	S II	315.00	2128.00	46.13	263- 351		203.33	8.33	2.89	200-205		240.67	1516.33	8.94	212-285	
Djenah Khotifa	S I	399.00	81.00	9.00	390- 408	0,013**	268.33	1358.33	36.86	240 -310	0,018*	397.67	1036.33	2.19	370-433	0,05*
	S II	362.67	132.33	11.50	351-374		179.33	204.33	14.29	167-195		324.00	4921.00	7.15	283-405	
Vitron	S I	403.00	103.00	10.15	392- 412	0,002**	208.33	108.33	10.41	200-220	0,21 ^{ns}	558.33	4008.33	3.31	510-630	0,05*
	S II	343.00	124.00	11.14	331- 353		197.67	46.33	6.81	190-203		332.67	506.33	2.50	310-355	
Béliouni	S I	443.67	376.33	9.39	431-466	0,033*	305.67	65.33	8.08	301-315	0,001**	455.00	900.00	3.00	425- 485	0,37 ^{ns}
	S II	407.33	12.33	3.51	404- 411		216.67	254.33	15.95	206-235		432.67	56.33	7.51	425-440	
Gta dur	S I	463.00	117.00	10.82	454- 475	0,001***	298.33	322.33	17.95	278-312	0,001**	483.33	3033.33	5.08	430- 540	0,05*
	S II	382.00	91.00	9.54	373- 392		193.33	8.33	2.89	190-195		322.67	1136.33	3.71	285-350	

2.3.2. Nombre de grains par épi (NG/E) et le poids de mille grains (PMG)

Ce paramètre est lié à la fertilité des fleurs, cependant il est déterminant pour le rendement et il est influencé par le déficit hydrique. le nombre de grain par épi moyen passe de $(50,02 \pm 0,99)$ G/E dans l'essai irrigué à $(16,72 \pm 0,87)$ G/E dans l'essai pluvial (**Tableau. 13**).

Dans le 1^{er} essai, on remarque que la variété Gta dur, enregistre la valeur maximale avec un nombre de grain/épi égale à $(50,02 \pm 0,99)$ G/E, cependant la variété Guem goum r'kham enregistre la valeur minimale avec $(20,40 \pm 0,858)$ G/E. tandis que dans le 2^{ème} essai, on décèle chez l'ensemble des variétés testées des valeurs de NG/E plus ou moins basses par rapport aux celles obtenues en conditions favorables,.

Les valeurs du PMG présentées par les variétés étudiées varient entre $(44,66 \pm 3,51)$ g et $(35,33 \pm 2,08)$ g pour le 1^{er} essai et entre $(33,66 \pm 0,57)$ et $(21,00 \pm 2,64)$ g pour le 2^{ème} essai (tableau 13.).

Le PMG le plus élevé est enregistré chez le génotype Gta dur avec $(44,66 \pm 3,51)$ g en condition favorable, par contre la variété Rahouia présente le PMG le plus faible avec $(35,33 \pm 2,08)$ g. Concernant le deuxième traitement La valeur maximale de PMG, est notée chez la variété Beliouni avec $(33,66 \pm 0,57)$ g, cependant le PMG minimale est observé chez Rahouia avec $(21,00 \pm 2,64)$ g. L'analyse de la variance a révélé une différence très hautement significative entre variétés, un effet stress et interaction variété x stress très hautement significatif (**Tableau .13**). Le nombre de grain /épi et le PMG sont les composantes principales du rendement, elles sont influencés par les caractéristiques variétales (Belaid, 1986). Les résultats obtenus pour ce paramètre montrent qu'il existe une différence plus ou moins importante inter variétales et entre les deux essais. Plusieurs auteurs ont montré qu'au

Au cours de la montaison, le manque d'eau affecte le rendement suite à la diminution de la fertilité, ce qui réduit le nombre de talles fertiles et le nombre de grains par épi (Eck, 1986 ; Boulassel, 1998 ; Nasr, 1994), ainsi, (Mohamed Ali ,1990) note que le stress hydrique pénalise la fertilité de l'épi et réduit, par conséquent, le nombre de grain par épi.

La réduction du nombre de grains est lié étroitement au stress hydrique intervenant durant la phase épiaison- floraison, phase pendant laquelle ce déficit entraîne un

avortement des épillets et une stérilisation des fleurs qui sera suivie d'une réduction de la viabilité du pollen et une diminution de la réceptivité des stigmates (Aspinall, 1964 ; Moughil, 1977). Fisher, (1973) note que la contrainte hydrique peut également conduire à une réduction des rendements sans effets apparents sur la morphologie de l'épi par l'induction d'une stérilité male. Le déficit hydrique du printemps a un effet qui se manifeste surtout sur le nombre de grains par épi, est rapporté par plusieurs auteurs (Ben Abdallah et Ben Salem 1993, Larbi, A et al , 2000). Ainsi que, Le rendement augmente avec l'augmentation du nombre de grains, (Rang et al., 1998).

Tableau . 13 Comparaison statistique (test t de student) des composantes du rendement (Nbre G/épi et PMG) obtenus chez les variétés étudiées des deux traitements (irrigué et non irrigué)

Variétés	Trait	Nombre de grains/épi (Nbre G/épi)					poids de mille grains PMG				
		\bar{x}	Var	Et	$\bar{x}_{\min} - \bar{x}_{\max}$	p	\bar{x}	Var	Et	$\bar{x}_{\min} - \bar{x}_{\max}$	p
Rahouia	S I	20.407	0.736	0.858	19.43-21.04	0,05*	36.33	0.33	0.58	36- 37	0,046*
	S II	16.723	0.772	0.878	15.77-17.5		21.00	7.00	2.65	19-24	
Guemgoum	S I	23.793	0.443	0.665	23.03-24.25		35.33	4.33	2.08	33-37	0,05*
	S II	19.08	0.022	0.147	18.99-19.25		22.00	1.00	1.00	21-23	
Djenah	S I	28.467	0.326	0.571	27.88-29.02		36.00	1.00	1.00	35-37	0,05*
	S II	22.797	0.187	0.432	22.3-23.09		23.67	30.33	5.51	20-30	
Vitron	S I	50.02	0.98	0.99	49.04-51.02		44.67	12.33	3.51	41-48	0,05*
	S II	43.477	1.822	1.35	42.43-45		32.33	4.33	2.08	30-34	
Béliouni	S I	34.96	0.211	0.46	34.43- 35.25		37.00	1.00	1.00	36- 38	0,046*
	S II	26.98	0.01	0.101	26.87-27.07		33.67	0.33	0.58	33-34	
Gta dur	S I	39.683	0.641	0.801	38.9- 40.5		42.00	4.00	2.00	40- 44	0,05*
	S II	34.193	4.538	2.13	32.3-36.50		31.33	4.33	2.08	29-33	

* : différence significative ($\alpha = 0,05$) p,

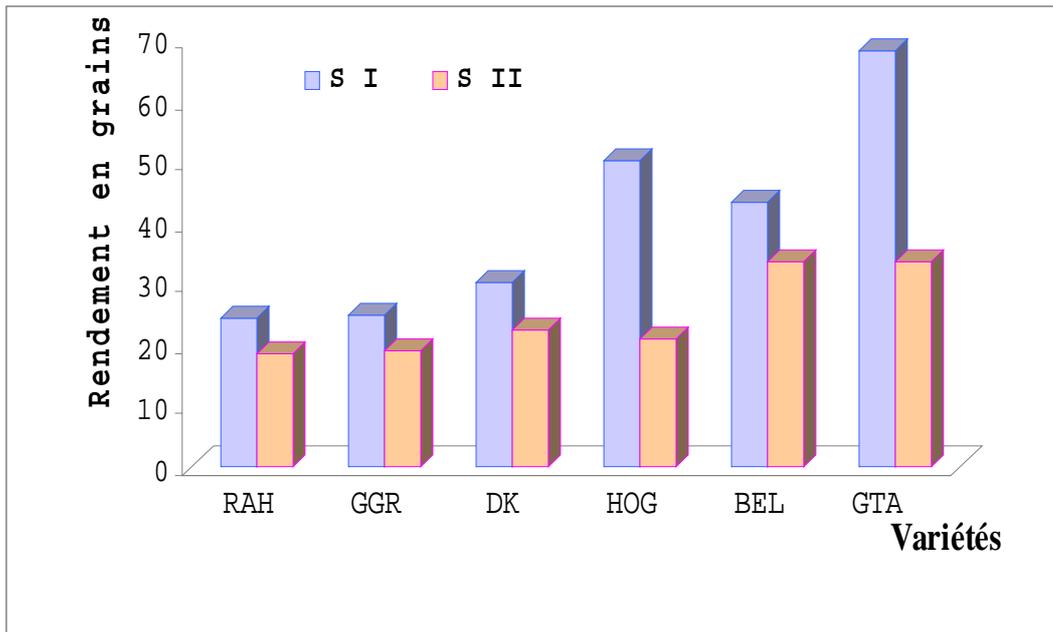


Figure. 25 Variation du rendement en grains chez les génotypes étudiés

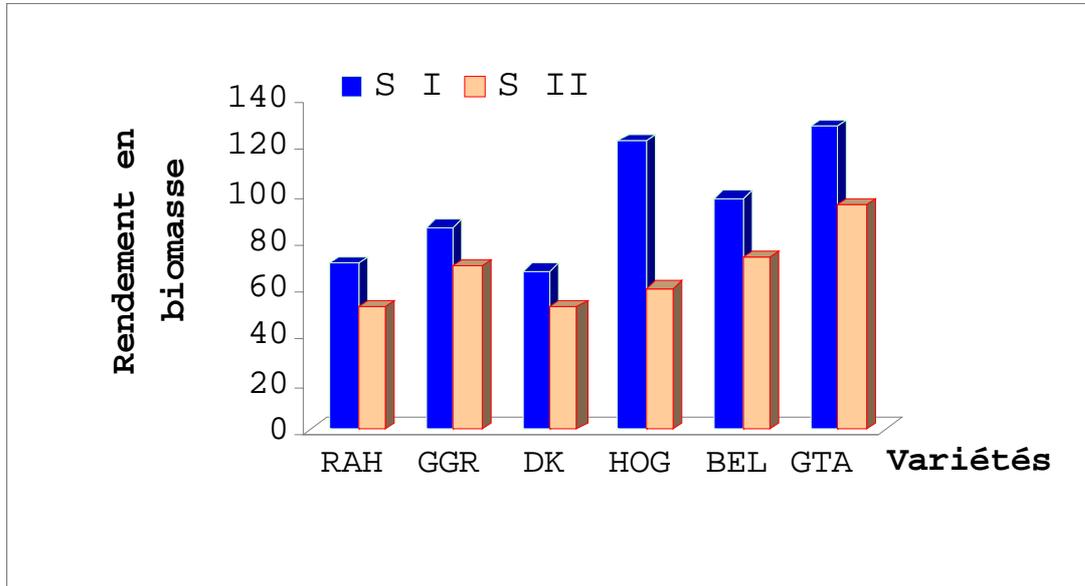


Figure. 26 Variation du rendement en biomasse chez les génotypes étudiés

2.3.3 Le rendement en grains (Rdt .G) et en biomasse aérienne (Biom)

D'après la **figure. 25** le rendement est variable entre variétés et entre les deux sites . Cependant la variété Gta dur se distingue par le rendement le plus élevé en grain dans les deux essais irrigué (68.29 ± 5.90) g/ Pe et non irrigué de (33.47 ± 3.17) g/ Pe, suivie par la variété Vitron . Alors que la plus faible valeur est obtenue par la variété GuemgoumR'kham, quelque soit les conditions du milieu (**Figure. 25**). Plusieurs corrélations ont été notées avec ce trait qui est de (0.90) avec la surface foliaire , 0.67 avec le nombre de talles par mètre carré , de 0.90 avec le nombre d'épi par mètre carré , de 0.83 avec le nombre de grains par mètre carré . ces résultats sont en accord avec plusieurs recherches qui montre que Le rendement est constitué de différentes composantes qui se mettent en place successivement ou simultanément au cours du développement de la culture (Masse, 1981). Ainsi, le rendement d'une culture de blé s'établit pendant deux grandes phases distinctes; la phase semis-floraison caractérisée par la mise en place du nombre de grains par unité de surface et la phase floraison- maturité correspondant à la croissance et au remplissage des grains à l'issue de laquelle se fixe le poids du gain.

Le rendement en biomasse semble aussi affecté par le manque d'eau . Nos résultats montrent qu'il existe une différence entre l'ensemble des variétés testées et entre les deux essais. Dans le 1^{er} essai la valeur maximale est enregistrée par les variétés Gta dur avec ($127,46 \pm 83,90$) g/m² et Vitron avec ($121,58 \pm 6,72$) g/m², tandis que la valeur minimale est enregistré par la variété Djenah khotaifa ($66,91 \pm 10,91$) g/m² (**figure. 26**). Dans le 2^{ème} essai, on décèle que les six variétés présentent une baisse importante des valeurs de la biomasse par rapport au 1^{er} essai. La variété affichant la valeur maximale est Gta dur avec ($94,85 \pm 6,74$) g/m², et la valeur minimale est représentée par les variétés Rahouia ($51,65 \pm 4,87$) g/m² et Djenah khotaifa ($51,89 \pm 3,68$) g/m².

2.3.4 Indice de récolte (IR) :

L'indice de récolte explique clairement la liaison entre la biomasse aérienne et le rendement en grain, car il représente la part de la biomasse produite et valorisée sous forme de grain. Les résultats obtenus nous montrent que les valeurs de l'indice de récolte varient entre les six variétés et entre les deux sites (**Fig. 27**).

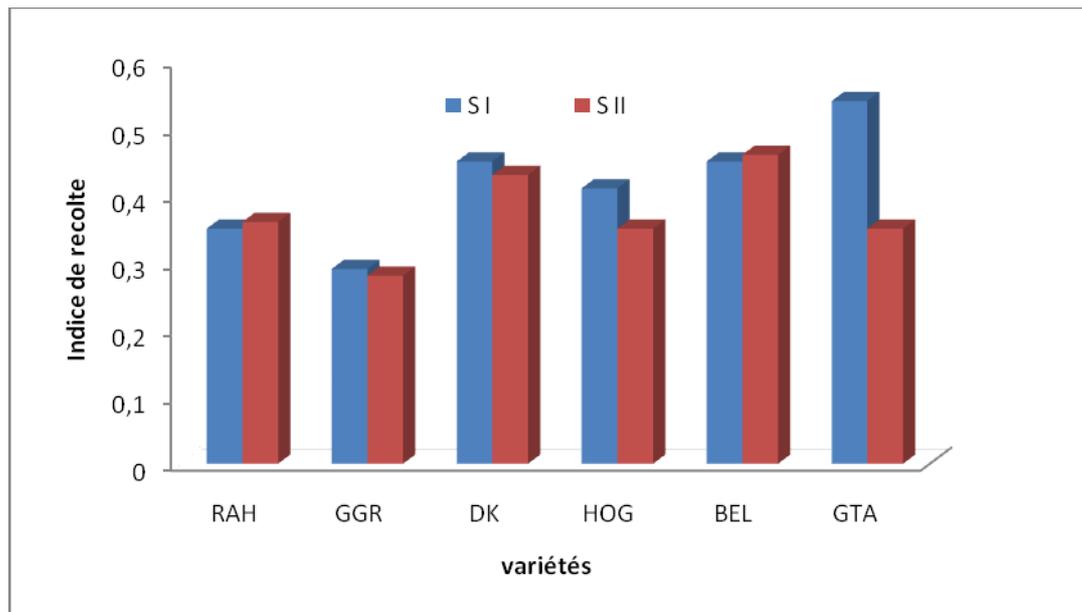


Figure. 27 Indice de récolte chez l'ensemble des variétés étudiées **SI**: irrigué **SII**: pluvial

Dans le 1^{er} essai la valeur maximale est enregistrée chez la variété Gta dur avec (0,54), tandis que dans le 2^{ème} essai les variétés : Vitron et Gta dur présentent une baisse de la valeur de ce paramètre. l'indice de récolte exprime l'aptitude de chaque variété à produire du grain par rapport à la matière sèche totale selon (Berger et al, 1990) . De nombreuses études (Ali Dib et al., 1990 ; Pheloung, 1991 ; Bouzerzour, 1993) ont montré que les variétés de blé à paille courte ont une bonne adaptation et une meilleure productivité en zones sèches en combinant une tolérance élevée à la sécheresse et un indice de récolte (I.R) élevé.

2.4. Paramètres physiologiques

2.4.1. La Teneur relative en eau (TRE%)

L'état hydrique des plantes peut être mesuré simplement et donné surtout par le contenu relatif en eau des tissus, il est très connu par son sigle anglais : RWC (Relative Water Content) (Gabriel C, 2008). Cependant la TRE la plus élevée dans l'essai irrigué est obtenue par la variété Belioni (85,18 ±01,59) %. En ce qui concerne le traitement pluvial, les variétés Belioni (77.14±04,95) % et Vitron (77.08± 00,81) % possèdent la plus forte TRE par rapport à l'ensemble des variétés étudiées (**Tableau. 14**). L'analyse de la variance a révélé une différence hautement significative entre variétés, un effet stress hautement significatif et un effet

interaction variété x stress non significatif (**Tableau .15**). La teneur relative en eau est un paramètre qui décrit la capacité de la plante à se maintenir hydratée en conditions déficitaires ce qui est confirmé par (Pirzad . A et 2011), qui montrent que le maintien de valeur assez élevée de la teneur en eau relative, en condition de stress peut résulter de deux mécanismes d'adaptation : maintien d'une élasticité élevée des tissus, ou diminution de la pression osmotique. Il permet de décrire le statut hydrique en réponse de stress et évaluer l'aptitude à réaliser une bonne osmorégulation pour maintenir la turgescence cellulaire (Lefi et al. 2004). De plus, (Yamasaki, S et Dillenburg.L. R, 1999 ; Diazperez et al, 1995 et Ritchie et al, 1990), suggèrent que les génotypes qui arrivent à maintenir une TRE élevée malgré le stress sont des génotypes tolérants.

2.4.2. Le Taux de déperdition d'eau (RWL)

Une différence variétale hautement significative a été notée pour ce paramètre (**Tableau.13**). On constate une augmentation du RWL chez les variétés, Le RWL le plus élevé dans l'essai irrigué est obtenu par la variété Gta dur et la variété Vitron. En ce qui concerne le traitement pluvial, la variété Beliouni et Djenah khotifa possèdent le plus fort RWL par rapport à l'ensemble des variétés (**Tableau. 14**). Des corrélations positives ont été notées avec ce paramètre tel que la teneur en proline , les sucres solubles et le potentiel osmotique (0.69, 0.79 et 0.89)respectivement ainsi que des corrélations négatives avec les composantes de rendement tel que le nombre de plants par mètre carré (-0.79). ce qui démontré par (Clark et Romagosa, 1991) et que selon cet auteur un faible taux de déperdition d'eau est associé à un rendement en grain plus élevé en cas de sécheresse.

2.4.3. Le potentiel osmotique (Po)

Les résultats obtenus montrent qu'il existe une variation significative entre les variétés et entre les deux traitements (**Tableau. 14**). Dans l'essai irrigué, les valeurs maximales sont enregistrées chez les variétés :Beliouni , Gta dur et Vitron respectivement : de l'ordre de (-13,23±00,61), (-12,25±00,24) Bars et (-11,02±00,28) . La valeur minimale est enregistrée chez la variété : Beliouni avec (-19.69±0.39) Bars. Dans l'essai pluvial, l'ensemble des variétés testées représentent des valeurs plus ou moins basses par rapport à l'essai irrigué ; la valeur maximale est enregistrée chez les variétés : DK et B17 avec (-19.52±0.61 et -19.51±0.11) Bars,

Respectivement et la valeur minimale est enregistrée chez la variété BEL avec (-20.78 ± 0.89) Bars (**Tableau. 14**). plusieurs corrélation positive ont été notées avec la teneur en eau relative (0.89) , l'accumulation d'osmolytes et d'osmoprotectants (proline, sucres et protéines solubles) ces corrélations sont de l'ordre de (0.86, 0.87 0.77) respectivement . Ce qui montre que l'abaissement du Ψ_o est dû à l'effet de la déshydratation, car les TRE les plus faibles coïncident avec les Ψ_o les plus faibles (Lewicki, 1993; Ogawa A et al, 2006). Ses résultats sont confirmés par (Zhu Z et al, 2011; Ashraf, M et al., 2007) qui montrent que la diminution du P_o est l'une des réponses prononcées au stress hydrique dans beaucoup de plantes, et que ce phénomène est lié à la synthèse et à l'accumulation de certains solutés non toxiques dissous dans le cytoplasme à faible poids moléculaire (sucres solubles, proline, glycine, polyamide et des ions).

Tableau.14 Comparaison statistique (test t de student) pour l'ensemble des variétés et pour les paramètres physiologiques

Variables		TRE%					RWL%					PO (- Bars)				
Variétés	Trait	Paramètres statistiques														
		\bar{x}	Var	Et	$x_{\min} - x_{\max}$	p	\bar{x}	Var	Et	$x_{\min} - x_{\max}$	p	\bar{x}	Var	Et	$x_{\min} - x_{\max}$	p
Rahouia	S I	77.47	0.91	0.95	76.92-78.57	0.046*	5.05	0.01	0.07	4.97-5.11	0.049*	5.49	0.23	0.48	5.05-6.01	0.05*
	S II	70.92	1.3	1.14	70- 72.19		14.57	0	0.06	14.50-14.60		12.59	0.29	0.54	12.25-13.21	
Guemgoum R'kham	S I	72.5	0.25	0.5	72 -73	0.049*	3.98	0.28	0.53	3.40-4.50		7.95	0.03	0.17	7.76-8.06	0.05*
	S II	68.3	2.17	1.47	67.4- 70		19.35	0.43	0.66	18.89-20.1		14.95	0.03	0.18	14.76-15.12	
Djenah Khotifa	S I	71.2	8.5	2.92	68.18- 74	0.126 ^{ns}	6.83	1.75	1.32	5.40 -8.01		9.91	0.03	0.17	9.76 -10.09	0.049*
	S II	67.9	8.59	2.93	65-70.86		33.33	2.33	1.53	32-35		16.14	0.15	0.39	15.78-16.56	
Vitron	S I	85.18	2.51	1.59	84.17- 87.01	0.046*	7.07	0.48	0.69	6.65-7.87		13.23	0.37	0.61	12.76-13.92	
	S II	77.14	24.49	4.95	71.43-80		40.21	0.65	0.81	39.5-41.09		20.95	1.34	1.16	19.73-22.03	
Béliouni	S I	72.98	4.54	2.13	71.15-75.32	0.049*	14.01	0.39	0.62	13.41-14.65		11.02	0.08	0.28	10.76-11.32	
	S II	77.08	0.66	0.81	76.19- 77.78		19.64	0.11	0.34	19.33-20.00		16.95	0.03	0.16	16.77-17.08	
Gta dur	S I	78.97	2.57	1.6	77.53- 80.7	0.049*	15.15	0.33	0.57	14.50-15.60		12.25	0.06	0.24	12.03-12.50	
	S II	71.67	1.17	1.08	70.73- 72.86		29.84	0.62	0.79	29.08-30.65		19.36	0.32	0.57	18.98-20.01	

Tableau. 15 analyse de variance pour l'ensemble des variétés et pour les parametres physiologiques

Variables	Effet hydrique					Effet variété					Effet interaction variété* traitement				
	Ddl	SC	MC	F	p	Ddl	SC	MC	F	p	Ddl	SC	MC	F	p
TRE %	1	159.9	159.9	33.27	0,000***	5	518.8	103.8	21.59	0,000***	5	149.3	29.9	6.21	0.001**
RWL (g 10 ³ /cm ² /mn)	1	2748.03	2748.03	4472.81		5	977.22	195.44	318.11		5	814.13	162.83	265.02	0,000***
P.O (- bars)	1	422.234	422.234	1714.15		5	255.867	51.173	207.75		5	3.204	0.641	2.60	0.051*

Ddl: nombre de degré de liberté, **Sc** : somme des carrés, **CM** : carré moyen, **F** : valeur calculé , **P** : probabilité de mettre en évidence des differences significatives , **ns**: non significative

2.5. Paramètres biochimiques

2.5.1 La proline

L'accumulation de la proline est l'une des stratégies adaptatives fréquemment observées chez les plantes pour limiter les effets du stress hydrique. Nos résultats montrent que la teneur en proline dans l'essai pluvial passe de $(71,38 \pm 4,17)$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ MF (Guemgoumr'kham) à $(48,78 \pm 0,60)$ $\mu\text{g}/\text{g}$ MF (Tableau. 16), tandis que dans l'essai avec traitement d'irrigation celle-ci passe de $(57,46 \pm 0,81)$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ MF enregistré chez la variété Beliouni à $(27,39 \pm 1,25)$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ MF notée chez Vitron. L'analyse de la variance a révélé une différence très hautement significative entre variétés, un effet stress très hautement significatif et un effet interaction variété x stress très hautement significatif (Tableau. 17). Dans cette étude l'accumulation de la proline est influencée par les conditions environnementales et que le manque d'eau induit une augmentation de la teneur de cet osmoticum, cette accumulation est liée positivement avec le taux de déperdition d'eau (0.69). Cependant, l'accumulation de cet osmoticum sous conditions déficitaires, a été notée par plusieurs chercheurs, sur différents types de plantes : par (Narayan et Misra, 1989) sur des variétés de blé dur, et (Parida, A et al, 2002) sur les feuilles de céleri. Ainsi que plusieurs auteurs ont montré que l'accumulation de la proline est considérée comme un indicateur de la tolérance à la sécheresse (Monneveux et Nemmar, 1986). De même, l'une des causes principales de cette accumulation est l'accumulation des sucres solubles (Hexoses), (Takemura, T et al, 2000; Ghasempour, H. et al, 2007 ; Hare et al, 1998).

En effet, pour maintenir la balance de la force osmotique, après la chute du potentiel hydrique causée par le stress hydrique (El Mourid, 1988 ; Bousba, 2006b; Szabados L. and A, Savouré, 2010), les plantes accumulent un certain nombre d'osmoticums tel que la proline, les carbohydrates et la betaine (Wang et al., 2003; Sankar et al., 2007 et Safarnejad, 2008) qui, en association avec d'autres facteurs tels que la réduction de la transpiration par la fermeture des stomates et la réduction de la surface foliaire (Karrou et al., 2001; Cha-um. s et Kirdmanee. C, 2008), permettent de garder la turgescence et le volume cytosolique aussi élevé que possible (Monneveux & Nemmar, 1986; Bouzoubaa et al., 2001; Wang et al., 2003).

2.5. 2. Les sucres solubles

Un autre mécanisme développé par les plantes pour résister dans des conditions défavorables est l'accumulation des sucres solubles. Ceci est démontré par

les résultats obtenus dans notre expérimentation. Dans le cas de l'essai pluvial les variétés Gta dur et Belioni sont caractérisées par une accumulation en sucres plus importante que les autres variétés ($103,56 \pm 00,40$ et $94,53 \pm 05,18$) $\mu\text{g}/\text{mg}$ MF respectivement (**Tableau. 16**). Par contre, dans l'essai avec irrigation, on note une diminution de cet osmoticums chez l'ensemble de variété étudiées. Des différences très hautement significatives ont été noté entre géotypes et entre traitements pour le dosage des glucides solubles (**Tableau. 17**). Notre étude, nous révèle une augmentation importante des sucres solubles et de la proline ce qui est en accords avec les travaux de (Al Jaafari, 1993 ; Zerrad W et al , 2008 Bousba et al 2011; Pirzad . A et al 2011). Zerrad W et al , 2008, explique que l'augmentation des sucres solubles chez les plantes stressées peut provenir soit d'une perte d'eau qui accroît la concentration cellulaire en ces solutés, soit par réduction de mobilisation vers les organes puits, soit de l'analyse de complexe glucidique.

2.5.3 Les protéines totales

Des différences significatives ont été notées entre géotypes et entre traitements pour ce paramètre. Le **Tableau. 16** donne les teneurs en protéines totales chez l'ensemble des variétés étudiées , les résultats obtenus montrent une augmentation significative en condition pluviale , avec une valeur minimale enregistrée chez la variété Gta dur ($19,23 \pm 00,73$) $\mu\text{g}/\text{mgMF}$ suivi par la variété locale Belioni ($14,43 \pm 00,51$) $\mu\text{g}/\text{mgMF}$; par contre les variétés Guemgoumr'kham, Djenah khotifa et Vitron sont caractérisées par une faible teneur en proteines totales avec des valeurs de l'ordre de : ($07,50 \pm 00,51$) , ($10,50 \pm 0,50$) et ($10,71 \pm 0,51$) $\mu\text{g}/\text{mgMF}$ respectivement. Dans l'essai pluvial la valeur minimale a été notée chez le géotype Guemgoumr'kham ($14,03 \pm 00,51$); tandis que la valeur maximale a été observée chez les variété Gta dur et Béliouni ($33,75 \pm 2,14$) et ($24,21 \pm 0,88$) respectivement. Donc dans notre contribution les variétés ont répondu au manque d'eau par une hausse dans le niveau des protéines totales. Cette augmentation peut être due à une activation d'un ensemble de gènes permettant la synthèse des protéines spécifiques associées aux stress telles que les protéines «LEA» qui assurent une protection de l'ensemble vital des protéines cellulaires (David & Grongnet, 2001; Abdel-Hady, M.S et al . 2001.) et les protéines de choc thermique qui permettent un maintien des structures protéiques et membranaires de la cellule végétale (Baker *et al.*, 1988).

Tableau.16 Comparaison statistique (test t de student) pour l'ensemble des variétés et pour les paramètres biochimiques

Variables		Sucres (µg/mg MF)					Proline(µg/mg MF)					Protéines totales(µg/mg MF)				
Variétés	Trait	Paramètres statistiques														
		\bar{x}	var	Et	$\bar{x}_{\min} - \bar{x}_{\max}$	p	\bar{x}	var	Et	$x_{\min} - x_{\max}$	p	\bar{x}	var	Et	$\bar{x}_{\min} - \bar{x}_{\max}$	p
Rahouia	S I	34.89	6.14	2.48	32.03-36.36	0,05*	27.39	1.56	1.25	26,29-28.75	0,05*	12.35	0.64	0.8	11,51-13.10	0,05*
	S II	87.84	0.31	0.55	87.20- 88.16		48.78	0.36	0.6	48,3- 49.45		20.22	0.01	0.1	20,12-20.31	
Guemgoum R'kham	S I	28.41	5.73	2.39	25.78 -30.46		36.77	2.18	1.48	35,09-37.84		7.5	0.26	0.51	6,99-8.01	
	S II	59.8	6.47	2.54	57.09- 62.14		71.38	17.43	4.17	67,49-75.79		14.03	0.14	0.38	13,65- 14.41	
Djenah Khotifa	S I	27.73	0.3	0.55	27.01- 28.12		39.68	0.45	0.67	38,94- 40.25		10.5	0.25	0.5	10.00- 11.00	
	S II	74.66	7.15	2.67	71.57-76.24		53.24	8.45	2.91	50,59-56.35		16.52	0.29	0.54	16.00-17.07	
Vitron	S I	46.25	4.59	2.14	44.95- 48.72		52.71	3.8	1.95	51,14-54.89		10.71	0.26	0.51	10,12- 11.01	
	S II	82.58	2.57	1.6	80.94- 84.14		83.51	7.78	2.79	80,49- 85.99		18.48	0.21	0.46	17,99- 18.89	
Béliouni	S I	62.3	21.28	4.61	59.60-67.63		57.46	0.66	0.81	56,74- 58.34		14.43	0.26	0.51	14,01-15.00	
	S II	94.53	26.85	5.18	88.96- 99.21		87.04	2.21	1.49	85,34-88.09		24.21	0.77	0.88	23,42- 25.15	
Gta dur	S I	67.44	2.24	1.5	66.11- 69.06		29.99	0.91	0.95	29,09- 30.99		19.23	0.53	0.73	18,57- 20.01	
	S II	103.56	0.16	0.4	103.15- 103.94		68.09	0.63	0.79	67,49- 69.99		33.75	4.58	2.14	31,74- 36.00	

Tableau. 17 analyse de variance pour l'ensemble des variétés et pour les parametres biochimiques

Variables	Effet traitement					Effet variété					Effet interaction variété* traitement				
	Ddl	SC	MC	F	p	Ddl	SC	MC	F	p	Ddl	SC	MC	F	p
Teneur en proline(µg/mg MF)	1	7059.6	7059.6	1825.26	0,000***	5	5184.3	1036.9	268.08	0,000***	5	612.1	122.4	31.65	0,000***
Teneur en sucres solubles	1	13917.7	13917.7	1993.54		5	7422.4	1484.5	212.63		5	564.2	112.8	16.16	
proteines totales (µg/mg MF)	1	688.71	688.71	1007.73		5	915.28	183.06	267.85		5	72.76	14.55	21.29	

Ddl: nombre de degré de liberté, **Sc** : somme des carrés, **CM** : carré moyen, **F** : valeur calculé, **P** : probabilité de mettre en évidence des différences significatives, **ns**: non significative

2.5.4 Electrophorèse des gluténines

Le traitement du gel obtenus par SDS –PAGE , par le logiciel **Photocapt 8** , permet une bonne visualisation des bandes ainsi que le calcul de leurs poids moléculaire en se referant a un marqueurs de taille (**Figure. 28**).

Les résultats obtenus concernant ce paramètre montrent des différences variétales, par rapport au nombre de bandes spécifiques et communes. nos résultats montrent que, le nombre totale des bandes observées est de : 32 bandes a un poids moléculaire variant de 325 KDa , enregistrés chez la variété locale Djenah Khotafa à 56.44 K Da, notée chez le cultivar Béliouni (**Annexe. 11**). La variété locale Djenah khotafa, se caractérise par la présence d'un nombre maximale des bandes comparativement aux autres variétés avec de poids moléculaire : 325.00, 230.00, 146, 128.41, 84.70 et 69.50 K Da, on constate aussi chez le même cultivar en condition pluvial l'absence de la bande dont le poids moléculaire est de 128.41 K Da, avec l'apparition d'une nouvelle bande de 124.70 K Da. Le nombre minimale des bandes est noté chez la variété GuemGoumR'kham avec la presence de deux bandes de : 183.64 et 145.0 K Da, avec l'apparition d'une nouvelle bande de: 85.76 K Da en condition non irrigué. Cependant la variété Gta dur présente un nombre total de bandes de quatre: variant de 193.58 K Da à 67.53 K Da , observées dans les deux essais irrigué et sans irrigation à l'exception la bande dont le poids moléculaire est de 127.15 K Da se révèle uniquement en condition irrigué (**Annexe. 11**), donc le nombre de bandes communes est de trois bandes. La variété introduite Vitron, présente trois bandes variant de 178.91 à 87.95 K Da, avec une seule bande commune entre les temoins et les stressés, on constate aussi l'absence de deux bandes de : 174.35 K Da et 145.08 K Da en condition défavorable. Cependant, la variété locale Rahouia, se distingue par la présence de trois bandes de poids moléculaire variant de 203.90 K Da à 65.21; avec une bande commune de 139.24 K Da observées chez les stressés. Il ressort de notre étude une importante variabilité génétique des glutenines

Dans le diagramme de sous unités des HPMs on remarque que les bandes des variétés stressés et témoins présentés dans le diagramme sont qualitativement les même. la dis similarité repose dans le poids moléculaire entre la majorité des HPMs revelés en condition irrigué et pluvial.

La classification hiérarchique (**Fig. 29**), nous a permis de subdiviser le dendrogramme en quatre classes, la première classe contient le génotype GuemGoum R'kham en condition défavorable, se caractérisant par un nombre minimal de bandes, la deuxième classe contient la variété Béliouni, la troisième classe est formée par les génotypes, Djenah Khotafa et Béliouni en condition pluviale et Gta dur (témoin) et la dernière classe est constituée par les génotypes : Vitron(témoin), Guemgoum Rkham (en condition pluviale), Djenah khotafa en condition favorable et la variété Rahouia dans les deux essais irrigués et sans irrigation.

Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés par (Farshadfar et al, 2008; Abdel-Hady M.S. et H M.H. El-Naggar, 2007 et Abdel-Hady et al, 2001), qui ont montré que le manque d'eau induit une diminution des protéines solubles par rapport aux témoins, et des protéines insolubles au niveau du grain mature du blé (Singh . S et al, 2008; Bousba. R & al, 2010). D'autres travaux qui ont été menés sur le blé, ont montré que les protéines totales subissent de nombreux changements de composition liés aux conditions environnementales pendant le remplissage du grain. Plusieurs recherches ont montré que ces modifications sont liées à l'élévation de température (Majoul T; 2004). Finalement, cette étude a mis en évidence l'existence d'une certaine variabilité génotypique pour les métabolites analysés. Ces derniers peuvent donc constituer des critères potentiels pour caractériser la tolérance à la sécheresse chez le blé dur.

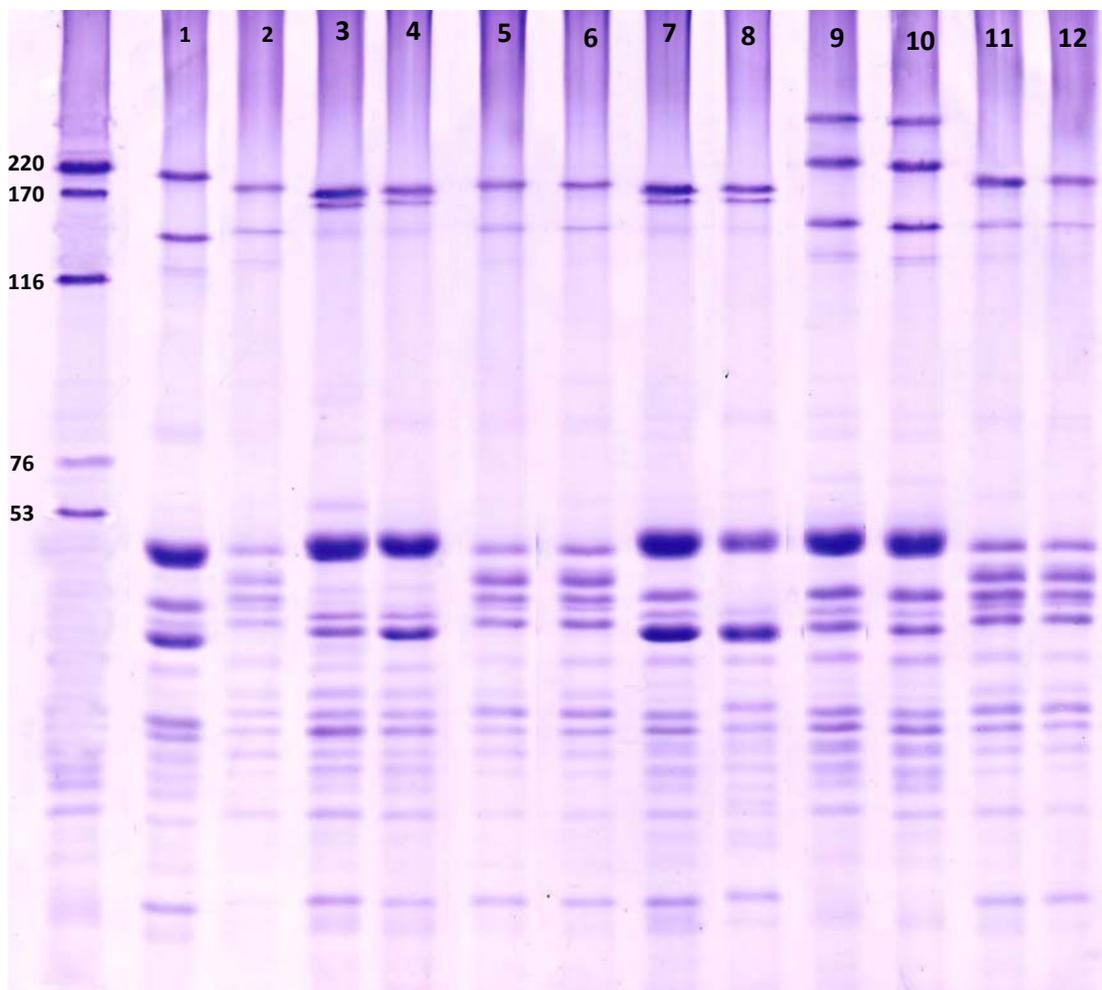


Figure 28. Diagramme électrophoreitique des cultivés étudiés face au stress hydrique

Témois (irrigué) et (pluvial) : **1** et **2**: Rahouia; **3** et **4**: Beliouni; **5** et **6** : Guemguoum R'khem, **7** et **8**: Vitron, **9** et **10**: Djenah Khetaifa, **11** et **12**: GTA dur.

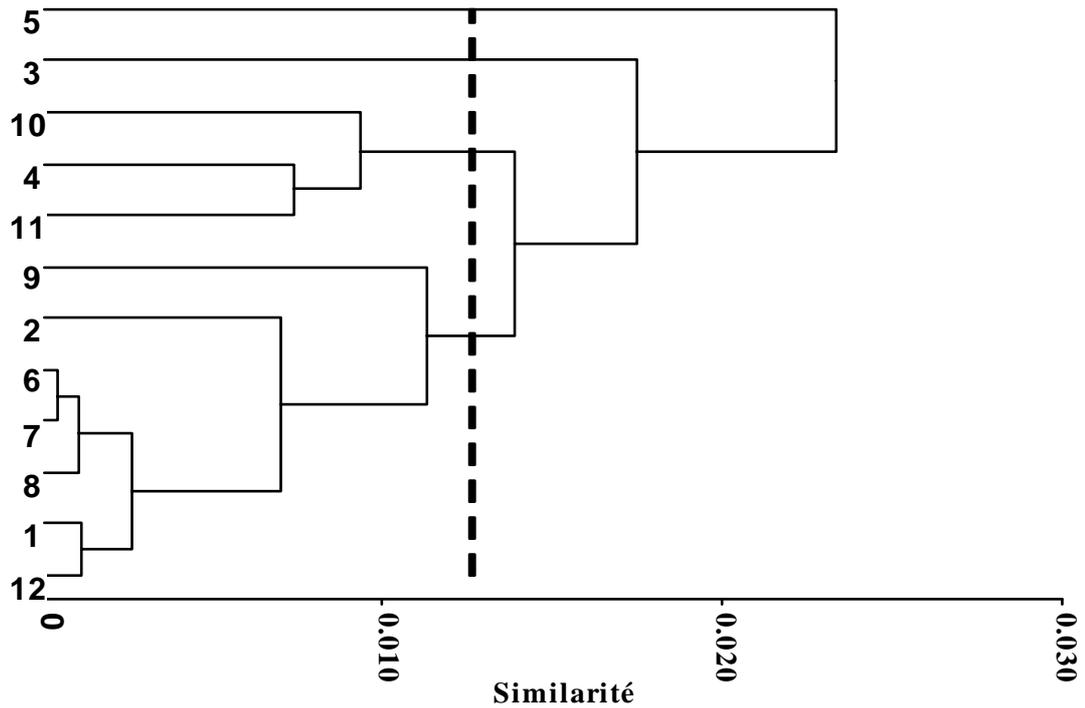


Figure. 29 Classification hiérarchique des protéines de réserves (gluténines) chez les génotypes étudiés (en condition pluvial et irrigué)
 1 et 2: Rahouia; 3et 4: Beliouni; 5et 6 : Guemguoum R'khem,
 7et 8: Vitron, 9 et 10: Djenah Khetaifa, 11 et 12: GTA dur.

2.6 Analyse en composantes principales de l'ensemble des variables étudiées

Une analyse en composantes principales a été réalisée a partir des 19 variables, mesurées sur les six variétés étudiées.

Les calculs réalisés donnent chaque fois, les caracteristiques des dix axes principaux, dont seuls les premiers axes principaux ayant chacun une valeur propre égale ou supérieur à l'unité , soit a la contribution moyenne des differentes variables, c'est-à-dire à la moyenne arithmétique de toutes les valeurs propres, qui ont été retenues. Ces axes retenus serviront par la suite à l'etude de la distribution des individus (variétés) et des variables dans des plans à deux dimensions. Le tableau (**Annexe. 9**) donne les valeurs propres, les pourcentage de variation expliquée par chacun des quatre axes retenus, ainsi que les pourcentages cumulées.

On remarque que le premier axe explique à lui seul 40.085% de la variation totale des variables initiales, les deux premiers axes expliquent ensemble 72.726% , les trois premiers axes expliquent 83.214% et enfin les quatre premiers axes expliquent 89.19%.

Donc ces quatre axes ou indices synthétiques résument au mieux l'information apportée par l'ensemble des variables initiales. La figure. 30 , fournie également les valeurs propres en fonction des rangs de toutes les composantes principales. Ce graphique montre l'importance décroissante des différentes composantes principale. Cependant, l'interprétation de ces composantes nécessite le calcul des corrélations entre chacune des composantes principales retenues avec chacune des variables initiales.

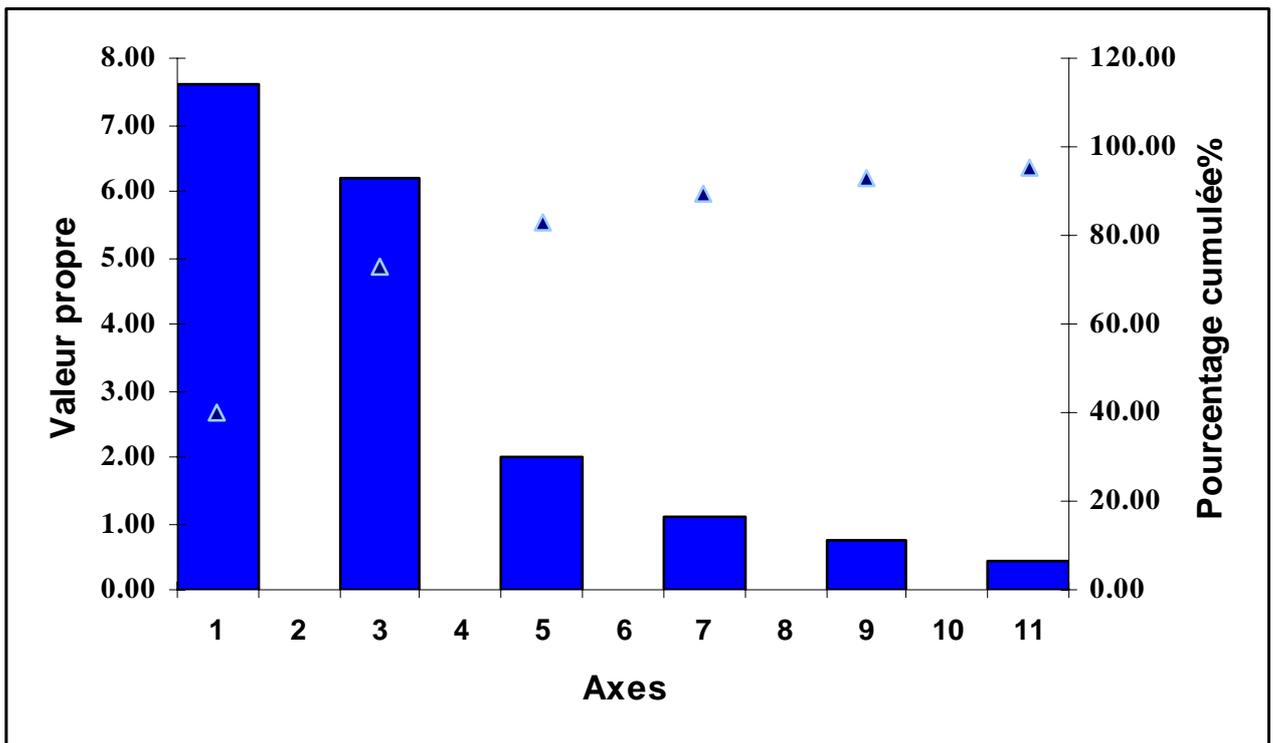


Figure. 30 Histogramme des valeurs propres en fonctions des rangs des axes principaux pour l'ensemble des variables et chez l'ensemble de variétés étudiées.

2.6.1 Analyse du nuage de points des variables

Les cercles de corrélations sont des graphiques visant à représenter géométriquement les variables initiales dans le nouveau système de coordonnées.

Ainsi donc la représentation des variables initiales dans le plan formé par les axes 1et 2 est appelé premier plan factoriel est utile, compte tenu de l'importance de ces deux axes dans la reconstitution des variables initiales (soit 72.73% de la variation totale) (**Figure. 31**)

Les résultats du tableau (**Annexe. 10**) , montrent que le premier axe qui contient à lui seul 40.08% de l'information apportée par l'ensemble des variables initiales, est constitué essentiellement par les variables : l epi, Lce, lb, Sf, Plant/m2, Nbrepi/m2, Pmg, Rdtg, Rwl, Po, proline, et sucres ; puisque la proportion de la variance prise en consideration par l'axe 1 pour chacune de ces variables initiales est $> 40\%$. Tandis que l'axe 2 qui contient 32.64% de l'information est formé par les variables : Haut, Ng/epi, Ir et Prots est dont les proportions de chacune est supérieure à 35%.

L'interprétation des corrélations contenues dans le tableau est faite grâce à la représentation graphique (cercle des corrélations) , un vecteur reliant le centre du cercle aux différents points représentant les variables . Les sommes de corrélations élevées au carré sur l'axe 1 et 2 (**Annexe. 10**) nous donnent la part de variation de la variable expliquée par l'axe . c'est la représentation en % d'une variable sur la plan, dans notre cas on peut dire que :

- le Rendement en grains et le Potentiel osmotique , sont très bien représentés ($\sum > 0.88$)
- Lce , lb , Sf, Talles/m2, Plant/m2, Nbrepi/m2, Ng/epi, Pmg, Biom, Rwl, Proline, Sucres et Proteines sont bien représenté ($\sum > 0.60$)
- la Hauteur de la plante et l'indice de récolte (Ir) sont moyennement représentés.

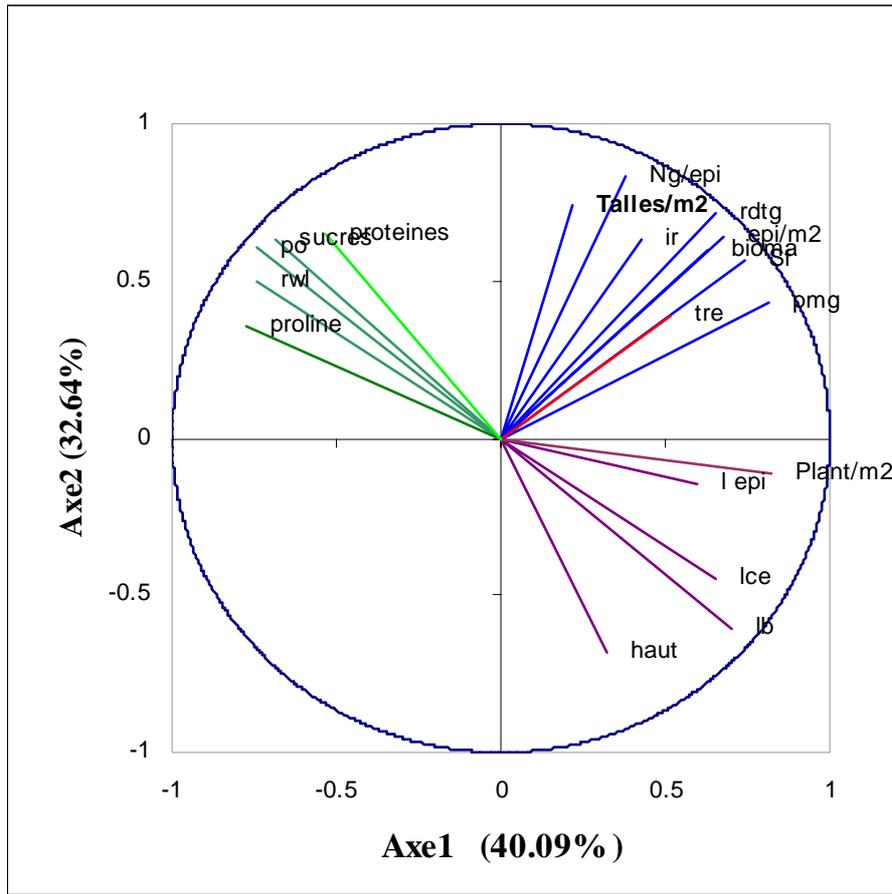


Figure .31 cercle des corrélations entre les différentes variables étudiées

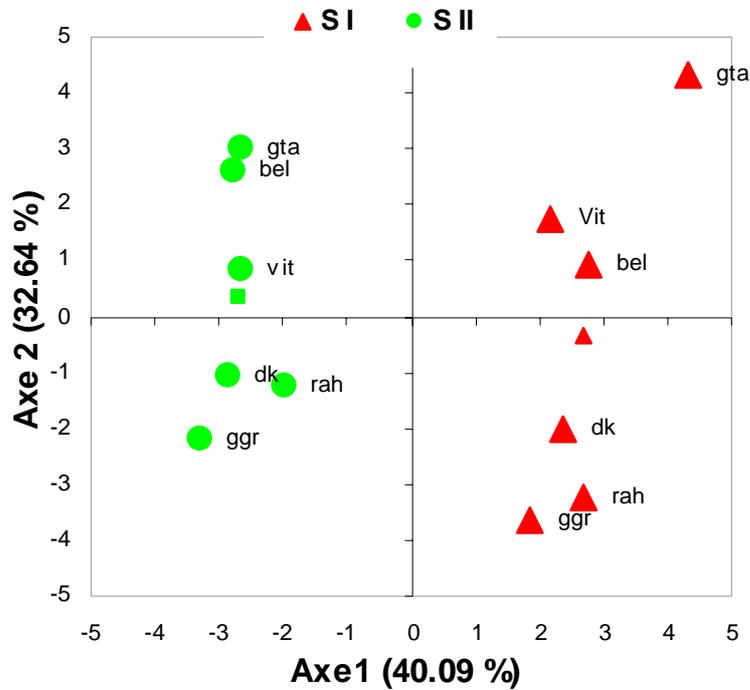


Figure. 32 représentation graphique des individus (variétés) dans le plan 1-2

Ces cercles de corrélations permettent parfois de donner une interprétation physique à certaines composantes principales ; un vecteur long indique une forte corrélation .

2.6.2 Analyse du nuage de points des variétés : graphique des individus

Le plan 1-2 , explique à lui seul un fort pourcentage de l'inertie totale de 72.73 %, donc on va représenter les individus graphiquement sur ce plan (**figure. 32**).

Selon Palm (1998), la qualité de la représentation d'un point dans le plan peut être obtenue en additionnant les cosinus carrés relatifs aux deux axes qui donne un pourcentage de la représentation du point sur le sous-espace défini par ces axes.

2.6.3 Superposition des variables et des individus du plan 1-2

L'étude de la répartition des individus et des variables permet de mettre en évidence trois groupes d'individus (**Figure. 33**)

- Le premier groupe constitué par les variétés (en condition irriguée) Gta dur , Vitron et Beliouni se caractérisant par un: PMG , rendement en grain et biomasse élevés.
- Le deuxième groupe représenté par les variétés Gta dur, Beliouni et Vitron (en condition pluviale) , caractérisées par une teneur en proline et sucres élevée.
- Le troisième groupe: constitué par les variétés Djenah khotifa , Rahouia et GuemGoumR'kham , caractérisées par une hauteur des plantes et des barbes élevée.

été enregistrée chez les variétés Benswif, Oued Znatie, Vitron, Gta dur, Bidi17, waha, Cirta et line3d (avec des valeurs variant de 126 à 100 jours).

En effet les stades repères qui découpent le cycle de la plante en phases de développement, sont l'épi à 1cm, l'épiaison et la maturité physiologique. Parmi les changements qualitatifs que subit la plante pendant sa vie, le plus important de tous est certainement l'épiaison, la durée semis épiaison dépend exclusivement de la température et de la luminosité (Kumar et Abbo 2001; Blum, 1988 ; Araus et al, 2003; Fisher, 1985). En conditions méditerranéennes, la sélection vers une plus grande précocité aux stade épiaison et a maturité a été la stratégie la plus utilisée pour minimiser les effet du stress sur le déroulement de la phase remplissage du grain (Bouzerzour et al, 1998), les géotypes photo et thermo- insensibles, capables d'épier tôt, sont plus aptes à s'adapter aux milieux caractérisés par des stress abiotiques en fin de cycle.

3. 2 Hauteur du chaume (cm)

Plusieurs chercheurs , ont constaté qu'une hauteur de paille importante en condition limitante en eau , est liée à la capacité de croissance du système racinaire en profondeur à la recherche d'une humidité du sol qui commence à faire défaut en surface, Concernant cette variable morphologique le tableau. 17, montre une variation hautement significative ($p < 0.01$) et que la paille la plus élevée avec une moyenne de 125 et 123cm a été observé chez les cultivars Djenah khotifa et Lahn/Ch12003 respectivement tandis que la variété Vitron se distingue par une longueur du chaume minimale de l'ordre de 56.89 cm appartenant à l'Espagne . Une hauteur de paille plus importante est donc une caractéristique désirable en zone semi aride, parcequ'elle est liée à un système racinaire capable d'aller en profondeur, a une production de biomasse importante et à la capacité de transferer les assimilats stockés.

Tableau. 18 valeurs maximales et minimales, moyennes, etendue critique, et coefficient de variation des caractères quantitatifs étudiés

Variable	Minimum	Maximum	Moyenne	EC	CV	NS
E	99.00000	130.00000	107.74333	5.171	2.342638	***
haut	51.00000	126.00000	93.19300	2.560	1.341036	***
E/m ²	49.00000	433.00000	192.46917	2.861	0.725477	***
gE	16.72000	438.00000	227.35192	4.164	0.894113	***
PMG	20.00000	46.30000	38.26200	1.474	1.879844	***
Rdt	18.00000	46.60000	34.41683	1.780	2.524804	***

CV: coefficient de variation

EC: etendue critique

NS: niveau de signification

3. 3 rendement et ses composantes

Le nombre d'épi par mètre carré, présente une variation de moyenne de 99.00 E/m² chez la variété Benswif, Béliouni et line3d à 130.0 E/m² enregistré chez Capeitti 8, Korifla = Sham -3 et Kyperounda la moyenne générale pour ce caractère était de 107.74 E/m². On observe une forte variation entre les variétés pour ce caractère de 72.54%, ce qui indique une très forte hétérogénéité entre les variétés étudiées.

Le nombre de grain par épi Le plus élevé était de 438.00g/E noté chez les variétés ; Mrf1/Stj2//Gdr2/Mgnl1, F4 13/3/Arthur71/Lahn//Blk2/Lahn/4/Quarmal =ICAMOR-TA04-69 et le plus faible chez Rahouia et Guemgoum r'kham avec 16.72 G/E. la moyenne pour Le poids de mille grains, varie de 46.30g pour Max F4 13/3/Arthur71/Lahn//Blk2/Lahn/4/Quarmal =ICAMOR-TA04-69, Lahn/Ch12003 et Amar à 20.00g pour les variétés Rahouia et Guemgoum r'kham. Le rendements en grain est également très variables, avec une moyenne de 34.41 q/he, les maxima se situant autour de 46.60q/he, a été noté chez Max F4 13/3/Arthur71/Lahn//Blk2/Lahn/4/Quarmal =ICAMOR-TA04-69, Ter-1/3/Stj3//Bcr/Lks4, Lahn/Ch12003 et Mrf1/Stj2//Gdr2/Mgnl1 et une valeur minimale pour les variétés Rahouia et Guemgoum r'kham (18.00 q/he). L'analyse de la variance (**Tableau. 18**) met en évidence un effet génotype très

hautement significatif ($p < 0.1\%$) pour tous les caractères quantitatifs étudiés, ce qui indique que l'importante variabilité observée au niveau des caractères démontre la diversité phénotypique des différentes variétés. Les corrélations phénotypiques entre les six caractères observés sont indiquées dans le **Tableau.19** La longueur du cycle à l'épiaison est positivement corrélé avec la hauteur de la plante, très hautement corrélé avec le nombre d'épi par mètre carré et hautement significative avec le poids de mille grain, ainsi que le Rendement en grain est très fortement corrélée positivement aux traits suivants : poids de mille grain 0,81, le nombre de grain par épi 0,54 et le nombre d'épi par mètre carré. La hauteur de la plante est positivement corrélé avec le nombre de grain par épi 0,49 et négativement corrélé avec le nombre d'épi par mètre carré -0,50. Une corrélation significative mais négative est également marquée entre le nombre d'épi par mètre carré et le grain par épi (-0,97).

Tableau 19 : matrice de corrélation entre les variables étudiés

	E	Em2	gE	PMG	Rdt	haut
E	1	-0,33	0,28	0,25	0,17	0,24
Em2		1	-0,97	-0,46	-0,39	-0,50
gE			1	0,57	0,54	0,49
PMG				1	0,81	0,09
Rdt					1	0,14
haut						1

En gras, valeurs significatives (hors diagonale) au seuil $\alpha = 0.05$ (test bilatéral)

3. 4 Signification des deux premiers axes de l'ACP

L'ACP structure les géotypes en fonction de la durée de leur cycle, le rendement et ses composantes et la hauteur de la plante, cependant, Les composantes principales de valeur propre supérieure à 1 qui sont représentées dans le tableau (**Annexe. 12**) donnent une estimation du pourcentage de la variabilité représentée par chaque axe. En général, on ne considère que les composantes principales de valeur propre supérieure à 1 (Jeffer, 1967). Ainsi, les deux premières composantes (CP1 et CP2) ont été retenues pour décrire la variabilité totale, car elles représentent à elles seules plus de 74% de cette variabilité (**figure. 34**).

Le premier axe (CP1) décrit 54% de la variation. Les caractères fortement liés sont l'épiaison, le nombre d'épi par mètre carré le nombre de grain par épi, le poids de mille grain et le rendement L'axe peut donc être interprété comme caractérisant le rendement et ses composantes. Le deuxième axe (CP2) décrit 30% de la variation. Il associe la hauteur de la plante, le rendement et le poids de mille grains. A travers cet axe, c'est la vigueur reproductive qui est évaluée.

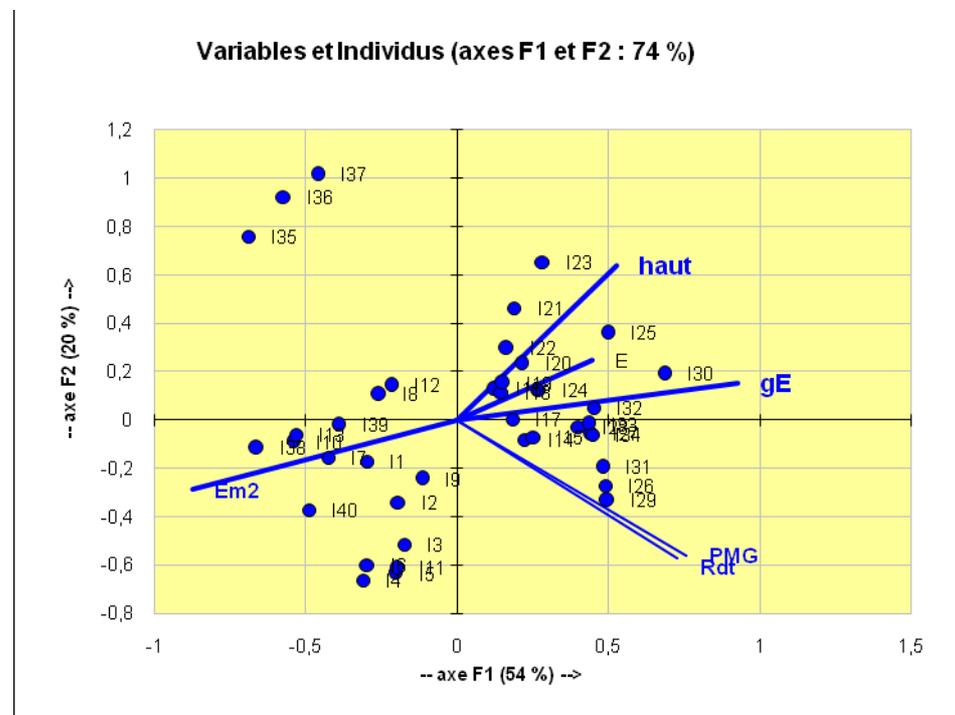


Figure. 34 Projections des géotypes sur le plan F1-F2 issu de l'analyse de la composante principale (ACP) des Paramètres utilisés. Les géotypes sont identifiés selon leurs provenances.

3. 5 Classification ascendante hiérarchique et l' Analyse factorielle discriminante AFD

La classification ascendante hiérarchique Matrice de similarité de manhattan methode de linkage complet et l'AFD (analyse factorielle discriminante, à partir des six variables discriminantes retenues par l'ACP ont mis en évidence cinq Groupes selon l'origine géographique des variétés : Le premier groupe est constitué par les variétés appartenant à l'Algerie, Tunisie Egypt et ICARDA qui ont une hauteur de la plante élevé, un rendement , PMG et NG/Epi moyen avec une longueur du cycle à l'épiaison réduite. Le deuxième groupe concerne les variétés de provenance Espagne, avec une hauteur de la plante réduite et un rendement faible et une période d'épiaison réduite. Le troisième groupe englobe des variétés originaires de Cimmyt, la syrie, Chypre et Syrie /Jordanie, possédant un nombre faible d'épi par mètre carré. Le quatrième groupe est composés de variétés d'origine ICARDA /Algérie, se caractérisant par un nombre de grain par épi élevé ainsi que par un PMG et rendement élevé, et sont moins tardifs.

Le cinquième groupe appartient à l'Italie se caractérisant par des géotypes tardifs. (**Fig . 35**) Les distances de Mahalanobis ont été calculées entre les différents groupes; les valeurs Fk calculées à partir de ces distances et leur probabilité associée montrent que ces cinq distances sont significativement distantes. A partir des distances de Mahalanobis entre les cinq groupes formés par la CAH est hautement significatif au seuil de 1%. On distingue une valeur minimale de 0.091 notée entre cimmyt et syrie suivie par 0.713 entre ICARDA et Algerie et une valeur élevé atteignant 47.052 entre L'Espagne et ICARDA/Algérie (**Fig . 36**).

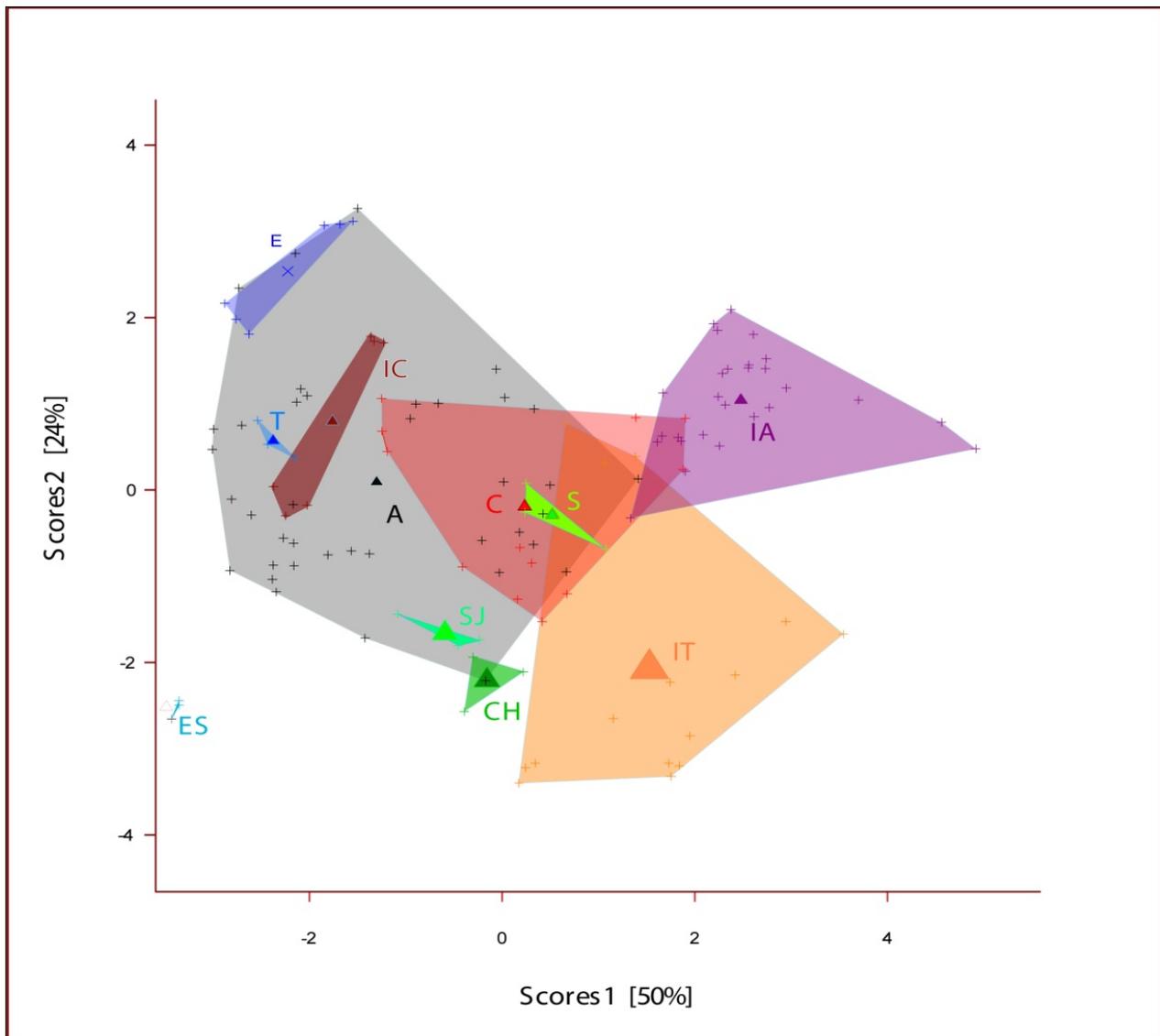


Figure. 35 Analyse factorielle discriminante AFD basées sur leurs régions d'origines

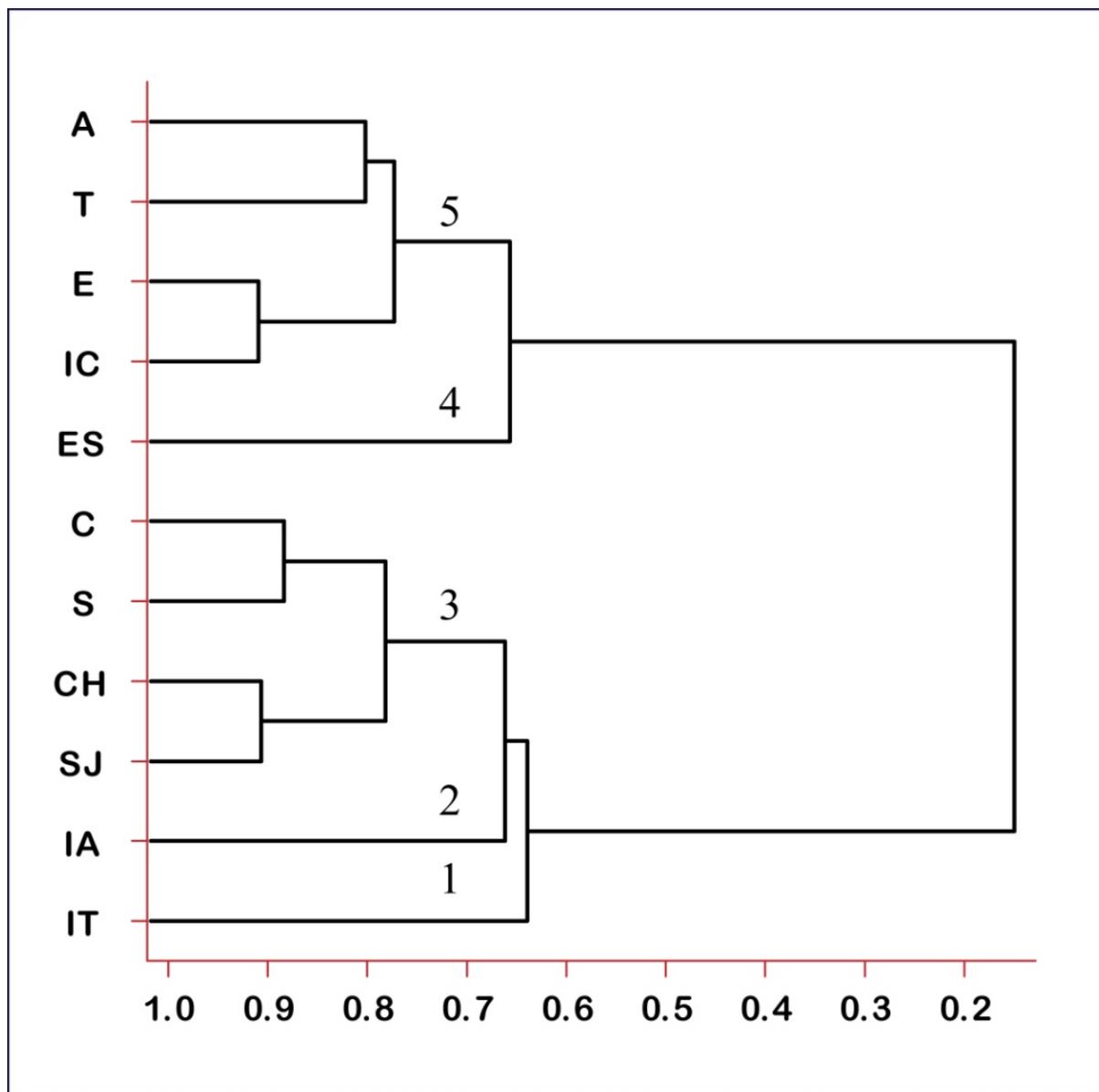


Figure. 36 : Classification hiérarchique (méthode de UPGMA) entre les variétés basées sur les distances euclidiennes pour l'origine géographique .

3. 6 Structuration génétique

En regroupant les génotypes par une approche Bayésienne en fonction de la composition génétique des individus et sans tenir compte de leur provenance, le nombre de populations le plus probable estimé était de six génétiquement distincts (**Figure. 37**). Pour le K , le nombre de populations le plus probable est celui qui obtient la valeur de K la plus élevée.(**figure . 38**)

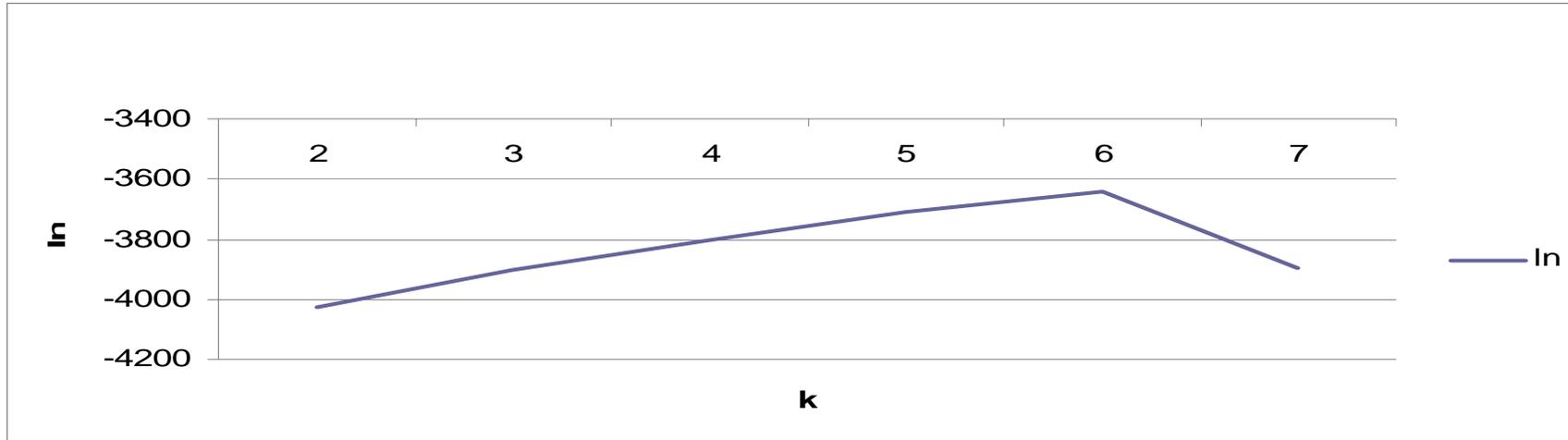


Figure.37 Indices $\ln P(D)$ et K calculés afin de déterminer le nombre de populations (K) le plus probable.

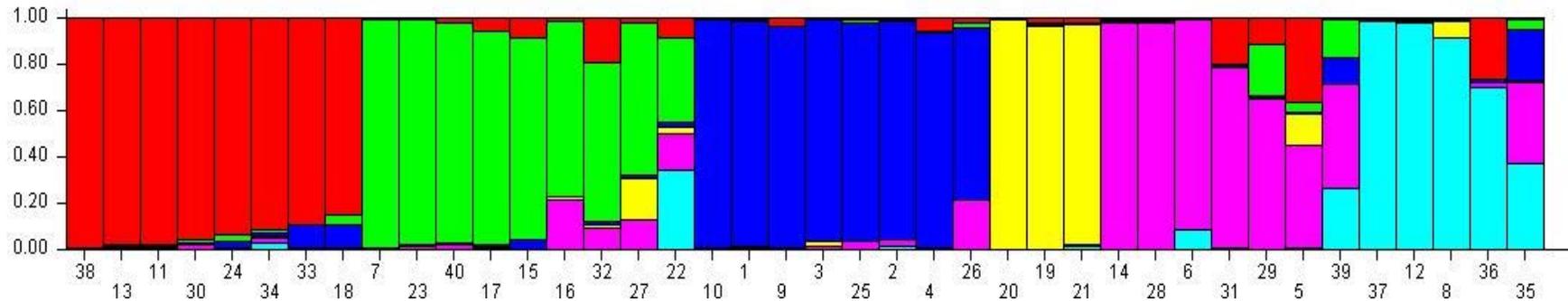


Figure. 38 Structuration des individus par population suivant la methode de Pristchard (Pristchard et al.,2000). Pour une valeur de K de regroupement donnée, les bandes de même couleur forment une seule population. P indique les populations d'origine et K indique les regroupements (structurations) possible

La figure 38 donne six groupes. Le premier groupe contient ; la variété Amar, line 3d TASSILI (RABI/FG), YAVAROS-79, Lahn/Ch12003, Miki-2, Adnan-138 et Vitron , le deuxième groupe est composé de Waha, SENATORE-CAPELLI, Gta dur, TELL, CHEN 'S' , KORIFLA = SHAM -3 76 Villemur/3/Lahn//Gs/Stk/4/Dra2/Bcr/5/Bcr/Lks4/4/Bezaiz-SHF//SD-19539/Waha/3/Stj/Mrb3, 27. Otb4/3/HFN94N-8/Mrb5//Zna-1 et SAHEL le troisième groupe formé de bidi17 , Cirta , hadba , cannesseo, Ofonto , collesseo, Beltagy et Mrf1/Stj2//Gdr2/Mgn1 le quatrième groupe est constitué de COCORIT C 71 20., KYPEROUNDA et . HAURANI, le cinquième groupe par CAPEITI 8 , 1/Stj5/5/Bidra1/4/Bezaiz-SHF//SD-19539/Waha /3/Stj/Mrb3 , benswif, Ter-1/3/Stj3//Bcr/Lks4, F4 13/3/Arthur71/Lahn//Blk2/Lahn/4/Quarmal =ICAMOR-TA04-69, Bouslem et Beliouni et à la fin le sixième groupe composé de Beliouni , Oued z'natie , Djenah Khotifa Tunisie , Rahouia, Guemgoum R'kham, Djenh Khotifa Algérie

3.7 Association entre les marqueurs moléculaires et phénotypes

Les marqueurs significativement associés avec les traits étudiés, ont été identifiés comme des QTLs putatives, Un QTL est caractérisé par son action sur le caractère étudié. Cette action peut être évaluée par l'ampleur de l'influence de ce QTL sur le phénotype observé. Pour cela, la part de variation phénotypique ou R^2 est calculée. Un R^2 de 0,15 signifie que 15% de la variation phénotypique est due au QTL. L'environnement est un facteur qui peut avoir une incidence importante sur l'effet des QTL. Ils peuvent apparaître, disparaître ou avoir des effets différents en fonction des lieux et des années. Les QTLs présents dans tous les milieux sont dits "généralistes" tandis que ceux qui ne sont présents que dans certains lieux sont dits "spécialistes" (De Vienne et Causse, 1998). Environ 30% des QTLs identifiés présenteraient une interaction avec l'environnement et ce pourcentage augmenterait quand les différences entre environnements augmentent (Asins, 2002).

Cependant, nos résultats montrent que le coefficient de détermination R^2 varie entre 32.46% et 99.46% de la variation phénotypique, la majorité des marqueurs significativement associés avec les traits étudiés, sont localisés sur le chromosome 4B . Des résultats antérieurs (Maccaferri et al, 2008 ; Diab et al 2008 Rebetzke et al. 2008; Zhang et al. 2008 et Zhang et al, 2011) , ont identifiés par une analyse d'association , plusieurs loci positivement corrélés avec les traits morphophysologiques de tolérance à la sécheresse tel que , la résistance stomatique, la température de la feuille , la longueur de l'épi, l'indice de sensibilité à la sécheresse et la date à l'épiaison. Ainsi que Diab et al 2008 ont montré l'existence sur le

chromosome 4B de plusieurs gènes de résistance à la sécheresse tel que les (XBM816640, XBM816848 et XBM816121) . Aussi plusieurs recherches antérieures ont mis en évidence l'importance de cette région du chromosome 4B, pour la tolérance à la sécheresse chez le blé dur, vu la présence des loci *Loxmjt* et *Lox11-1* genes codant pour la lipoxygénase, ces gènes coségrégent avec les Qtls des traits morphophysologiques. la lipoxygénase est une enzyme qui catalyse l'hydroperoxydation des acides gras et a été isolé des plantes lors d'un stress hydrique (Bell and Mullet, 1991), Vick and Zimmerman, 1987 montre son rôle important dans la biosynthèse de l'hormone de stress (ABA), et ce par la transformation de la violaxanthin en xanthoxin en présence de la linoléate la Xanthoxin est un précurseur de l'ABA qui est une étape importante chez les plantes stressées (Sindhu and Walton, 1987) , cependant le rôle physiologique de gène de lipoxygénase n'a pas été bien déterminé, plusieurs études montrent sa corrélation avec la tolérance à la sécheresse ce qui laisse suggérer son rôle dans la tolérance à la sécheresse chez le blé dur. De cet effet, cette région peut être utilisée en programme d'amélioration pour la tolérance à la sécheresse chez le blé dur.

3.7.1 La date d'épiaison (E)

L'hypothèse d'association des SSR avec la durée de l'épiaison a été testée par le GLM (General Linear Model). deux marqueurs SSR significativement associés avec ce paramètre. C'est le cas de (*WMS6* ($p < 0.01$) localisé sur le chromosome 4B , avec 96.84 % de variation phénotypique et *WMC445* ($p < 0.05$) localisé sur le chromosome 5A avec 32.46% de variation phénotypique (Tableau. 20) , l'effet additif de ces deux marqueurs compte de plus de 100% de la variation totale de la date d'épiaison , enregistrés chez les variétés Oued.Zenati (allèle 198pb) pour le marqueur *WMS6* , et Bouslem (allèle 260pb) pour *WMC445*. ces deux variétés se révèlent précoces à l'épiaison dans les conditions de culture de la région, ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par (Diab et al, 2008 et Maccafferri et al, 2008). Kato et al. 2000; Huang et al. 2003; Li et al. 2007 , ont localisé des QTLs de l'épiaison et le rendement sur le chromosome 5A.

Tableau.20 Corrélations des marqueurs (R²) avec les différents caractères ét

Les probabilités de signifiacne sont indiquées en symbole :

*P < 0.05, ** P < 0.01, *** P < 0.001.ns : non significatif

Trait	Marker	P	R ²	%
E	WMS149	5.078 ^{ns}		88.83
	WMS6	0.001***		96.84
	WMC445	0.05*		32.46
G/E	WMS30_1	0.002***		98.87
	WMS375	0.006**		57.73
	WMC165_2	0.011**		46.23
	WMS118	0.02*		78.10
	WMC54_2	0.05*		44.83
	WMS169	0.054*		82.46
E/m2	WMC165_2	0.005**		49.88
	WMC54_2	0.013**		51.79
	WMS149	0.04*		60.98
PMG	WMS375	0.005**		58.64
	WMC165_2	0.01**		46.45
	WMS149	0.02*		64.41
	WMC153_2	0.03*		45.71
	WMS30_1	0.03*		96.58
	WMS118	0.03*		76.72
	WMC54_1	0.03*		49.80
	WMS304	0.04*		76.57
Rdt	WMS149	0.008**		68.94
	WMS30_2	0.021*		99.46
	WMC177_2	0.03*		49.74
Haut	WMC177_2	0.03*		49.08

3.7.2 Rendements et composantes du rendement

Les résultats obtenus, montrent six marqueurs significativement associés avec le nombre de grain par épi (Tableau. 20), localisés respectivement sur les chromosomes 3A, 4B, 5A, 3B, (3A, 3B, 6A), ce qui montre que, le caractère quantitatif est le résultat de l'expression de plusieurs gènes qui influencent partiellement le caractère (De Vienne et Causse, 1998). (Roy et al, 2004) ces marqueurs sont : (WMS30 ($p < 0.001$) (129, 208pb) et WMS375 ($p < 0.01$), WMC165 $p < 0.01$, WMS118 ($p < 0.05$), WMC54_2 ($p < 0.05$) (Amar) 153pb, WMS169 ($p < 0.05$). Leur contribution varie entre 44,83% et 98,87% de la variation totale. Ainsi que la présence de ces loci est positivement corrélés avec un nombre de grain par épi élevé. ces Qtls ont été identifiés par Merza et al, 2006, sur les chromosomes 1A, 1B, 2B, 3B, 5B et

7A. Ainsi que , plusieurs études montre l' association du chromosome 7A avec la résistance a la secheresse chez le blé dur (Morgan and Tan, 1996; Galiba, 2002; Cattivelli et al.,2002).

Concernant le nombre d'épi par mètre carré E/m² , le tableau. 19 montre l'existence de trois marqueurs SSR gnifictivement associés , detectés respectivement c'est le cas de : *WMC165* ($p<0.01$) (257pb) , *WMC54_2* ($p<0.01$) 153 pb , *WMS149* ($p<0.05$) (145pb), localisés sur le chromosome 3AS et 4BL avec une variation phénotypique de 49.88% a 60.98%.

Pour le poids de mille grains PMG , huit marqueurs SSR associés significativement à ce paramètre ont été detectés respectivement (tableau. 19) le *WMS375* ($p<0.01$) (140pb) , *WMC165_2* ($p<0.01$) (257pb) , *WMS149* ($p<0.05$) (145pb) , *WMC153_2* ($p<0.05$) (175pb) , *WMS30_1* ($p<0.05$) (208pb), *WMS118* ($p<0.05$) (199pb) , *WMC54_1* ($p<0.05$) (94pb) , *WMS304* ($p<0.05$) (209pb), contribuant de 58.64%, 46.45%, 64.41%, 45.71%, 76.72%, 96.58% , 49.80% , 76.57% à la variation phénotypique, localisés sur les chromosomes 4B, 3A,5B et 5A. la presence de ces QTls et fortement liés avec l'augmentation de cette composante. Concernant le rendement, trois significatives marqueurs SSR ont été détectés respectivement (tableau. 20) *WMS149* ($p<0.01$) , (*WMS30_2*) ($p<0.05$) et *WMC177_2* ($p<0.05$) avec 68.94%, 99.46% et 49.74% respectivement de variation phénotypique , localisés sur le chromosome 4B, 3A et 2A.

les résultats obtenus dans cette étude sont comparables avec ceux obtenus par plusieurs recherches anterieures, montrant la localisation des gènes et Qtls de tolérance au condition du milieu sur les chromosomes 2A et 4B ; cependant Maccaferri et al, 2011 ont identifiés une serie de régions chromosomiques significativement affectés par la variabilité des traits d'adaptation des plantes aux contraintes . Ainsi que la presence du locus BM816370, codant pour l' alcohol dehydrogenase, sur le chromosome 2A l' Alcohol dehydrogenase est une enzyme induite par l'ABA chez *Arabidopsis*) (Bruxelles et al., 1996) Jarillo et al., 1993; Dolferus et al., 1997; Conley et al., 1999). Aussi Kato-Noguchi,2000 a montré que l' activité de cette enzyme augmente sous l'effet d'un stress osmotique chez le maïs. Mathews et al, 2008 ont localisé huit QTL pour le rendement sur les chromosomes 4B.

3.7.3 Traits morphologiques (Hauteur de la plante)

Un marqueur qui est le *WMC177_2* ($p<0.01$) a été détecté associé avec ce parametre ; localisé sur le chromosome 2A enregistré chez les variétés se caracterisant par une hauteur de plante basse (70cm) le taux de variation phénotypique pour ce paramètre est de 49.08% . Ce résultat est en accord avec ceux rapportés par Yao et al. (2009) qui ont identifié un QTL sur le chromosome 2A.

le nombre des associations significatives indiquant les présences de QTLs a varié de un à huit QTLs par caractère. Certains loci ont été spécifiques au rendement, notés chez les variétés tolérantes aux conditions de la région de cultures avec une production plus ou moins importante, tel que la variété , hedba, Cirta, Haurani, Amar, beliouni Chen's, vitron, Djenah khotifa Tunisie, et Tell75 et productive tel que (Mrf1/Stj2//Gdr2/Mgn1) et (Oss1/Stj5/5/Bidra1/4/Bezaiz-SHF//SD-19539/Waha/3/Stj/Mrb3). Il s'agit des marqueurs (*WMS375*, *WMC165*, *WMS149* *WMC153* *WMS30*, *WMS118* , *WMC54* , *WMS304*, *WMC177*, *WMC54* et *WMS375* , , *WMS169*) qui sont impliqués respectivement dans la variation du rendement et ses composantes . Par contre les marqueurs *WMS6* et *WMC445* ont été spécifiques au caractère phénologique (Date d'épiaison), d'autres marqueurs sont communs et associé à deux caractères à la fois ; au rendement et au caractère morphologique (la hauteur de la plante) tel que le marqueur *WMC177*.

Ce qui montre que, Le nombre de QTL détectés dépendra du nombre de gènes impliqués et de leur effet sur le caractère ; (Gallais et Rives, 1993; Lakew B et al, 2012). Si dans une population, il existe un QTL à fort effet, les QTL à faible effet risquent d'être masqués. Plus il y a de gènes impliqués et plus l'influence de chaque gène sur le caractère sera susceptible d'être faible. Quand seuls quelques gènes affectent le caractère, la détection de QTL sera plus facile que quand de nombreux gènes sont impliqués car les effets individuels seront plus élevés (Doerge et al., 1997). (Kearsey et Farquhar, 1998). Donc estimer le nombre de gènes impliqués dans la détermination d'un caractère quantitatif n'est pas facile car ils ne sont pas tous détectés lors de la recherche de QTL (Gallais et Rives, 1993). Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par Börner et al. (2002), qui ont identifiés 88 genes majeurs, contrôlant la réduction de la hauteur de la plante , positionés sur le chromosome 4B et 7B détectés par Quarrie et al. (2005 and 2006).

3.8 Diversité génétique et caractérisation des marqueurs SSR

Tableau. 21 Les fréquences alléliques des SSR étudiés, nombre d'allèles, gene diverité l': Hétérozygotie etPIC: Contenu informatif du polymorphisme.

Marker	Major.	Allele no	Availability	Gene	Heterozygosity	PIC
	Allele.Frquency			Diversity		
WMC63	0.4500	9.0000	1.0000	0.6972	0.9750	0.6516
WMC165_1	0.2750	9.0000	1.0000	0.8075	0.6500	0.7816
WMC165_2	0.5000	9.0000	0.9500	0.7147	0.0000	0.6960
WMC445	0.7500	5.0000	0.7000	0.4133	0.0000	0.3858
WMC150_1	0.4211	11.0000	0.9500	0.7116	0.8947	0.6698
WMC150_2	0.5000	11.0000	0.9000	0.6894	0.1111	0.6575
WMC177_1	0.1375	24.0000	1.0000	0.9400	0.1750	0.9369
WMC177_2	0.2778	10.0000	0.9000	0.8422	0.0556	0.8247
WMC78_1	0.1500	22.0000	0.5000	0.9350	0.5000	0.9315
WMS06	0.3333	8.0000	0.3000	0.8090	0.0833	0.7866
WMC105_1	0.2353	18.0000	0.8500	0.8676	0.1471	0.8558
WMC105_2	0.2778	11.0000	0.4500	0.8549	0.1111	0.8409
WMS149	0.3974	16.0000	0.9750	0.7748	0.4103	0.7519
WMC235	0.3333	4.0000	0.1500	0.7222	0.0000	0.6713
WMS304	0.1795	23.0000	0.9750	0.9191	0.3846	0.9140
WMS198	0.4306	22.0000	0.9000	0.7797	0.2500	0.7661
WMS375	0.3289	14.0000	0.9500	0.7715	0.1316	0.7411
WMS135	0.6216	11.0000	0.9250	0.5961	0.0000	0.5823
WMC168	0.5556	4.0000	0.2250	0.6173	0.0000	0.5688
WMC322	0.3158	14.0000	0.9500	0.8148	0.8684	0.7934
WMC54_1	0.7167	9.0000	0.7500	0.4706	0.1333	0.4541
WMC54_2	0.4342	10.0000	0.9500	0.7510	0.1316	0.7258
WMC153_1	0.7167	5.0000	0.7500	0.4494	0.0333	0.4113
WMC153_2	0.5294	9.0000	0.8500	0.6799	0.0000	0.6566
WMC167	0.2188	12.0000	0.4000	0.8652	0.1875	0.8520
WMS169	0.2000	20.0000	1.0000	0.9056	0.9000	0.8988
WMS108	0.3194	18.0000	0.9000	0.8148	0.3889	0.7958
WMS30_1	0.1290	23.0000	0.7750	0.9251	0.7097	0.9203
WMS30_2	0.2727	12.0000	0.2750	0.8719	0.3636	0.8614
WMC307	0.4545	4.0000	0.5500	0.6570	0.0909	0.5934
WMC179	0.2375	17.0000	1.0000	0.8794	0.6500	0.8691
WMS118	0.2237	17.0000	0.9500	0.8736	0.8684	0.8623
Mean	0.3726	12.8438	0.7719	0.7632	0.3189	0.7409 ± 0.0255

Le polymorphisme génétique d'une population représente la réserve de variabilité nécessaire qui permet à la population de s'adapter à de nouvelles conditions du milieu. Dans cette étude toutes les amorces utilisées ont généré des profils polymorphes avec un indice de diversité génétique variable et significatif, Le tableau. 21 présente les fréquences alléliques et les paramètres estimés des marqueurs SSR étudiés. Les variétés sont génétiquement très diversifiées avec des taux d'hétérozygoties allant jusqu'à 0.9750 pour le locus *wmc 63*, excepté l'amorce *WMS135* qui présente une valeur nulle (0.0000) d'hétérozygotie et avec 11 allèles monozygotes (tableau. 21), En effet, l'étude menée par Roider et Gupta a confirmé la variabilité génétique de ces amorces utilisées. La différence dans l'indice de diversité révèle un degré significatif du polymorphisme. Plus sa valeur tend vers 1, plus l'amorce en question est polymorphe et vis versa. Le tableau. 21 montre aussi la répartition des fréquences alléliques des microsatellites étudiés chez les quarante variétés analysées. Une nette variabilité pour le nombre d'allèles est observée ; les loci *WMC54*, *WMC153*, et *WMC445* se présentent les plus polymorphes avec des fréquences alléliques plus élevées par rapport aux autres marqueurs allant de 0.71, 0.72 à 0.75 respectivement. Le nombre moyen d'allèles par locus, est important car il montre le taux d'allélisme ou richesse allélique, cependant, le profil de répartition des allèles pour chaque amorce est remarquablement différent, il est en moyenne de 13 par amorce et varie entre quatre allèles observés chez l'amorce (*WMC235* et *WMC168*) et 24 allèles pour l'amorce *WMC177*. Ce paramètre témoigne du niveau élevé de polymorphisme au sein des variétés révélées par les amorces sélectionnées.

L'obtention d'un nombre élevé d'amorces SSR polymorphes est d'une utilité importante. Elle permet d'augmenter la fiabilité des interprétations des résultats, surtout si les profils générés sont reproductibles. Concernant, le PIC, les valeurs calculées pour les 26 microsatellites sont indiquées, dans le tableau. 21 D'une manière générale, les valeurs de PIC sont assez élevées ; la valeur moyenne obtenue pour l'ensemble des amorces est de 74%, Les valeurs plus élevées sont obtenues par les microsatellites *WMC177* et *WMC78* avec (94% et 93%) respectivement ce qui est en accord avec le nombre important d'allèles, ceci consolide et justifie le choix d'utiliser ces amorces pour analyser nos variétés de blé dur

3.9 Analyse de la variance moléculaire (AMOVA)

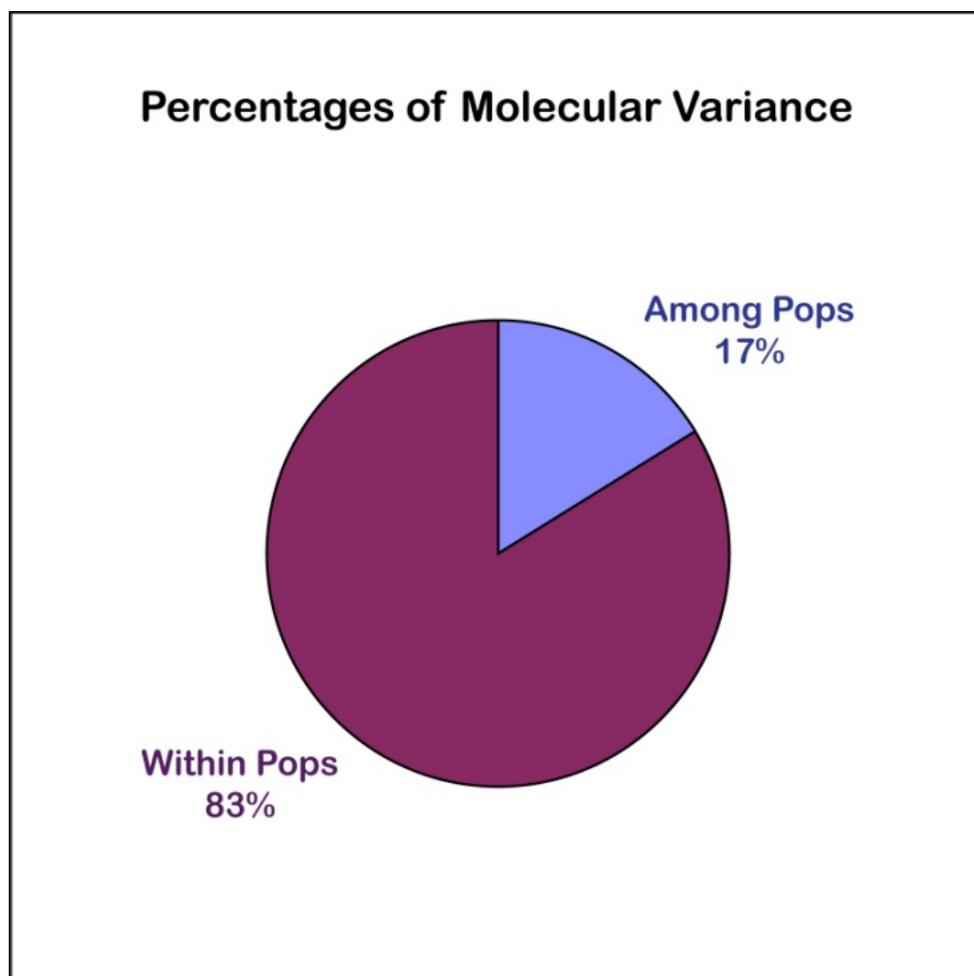


Figure. 39 Analyse moléculaire inter et entre population selon les régions

Les résultats de l'analyse de la variance moléculaire (AMOVA) ont montré qu'un pourcentage très élevé (83%) de la variabilité des loci SSR est attribuée à la variabilité inter régions et seulement 17% de cette Variabilité a été entre les régions (figure. 39).

3.10 Test de Mantel

Le dendrogramme, montrant la corrélation entre la matrice de similarité moléculaire et phénotypique a détecté une corrélation hautement significative avec ($r = 0.6096$ avec 1000 permutations) (Figure. 40)

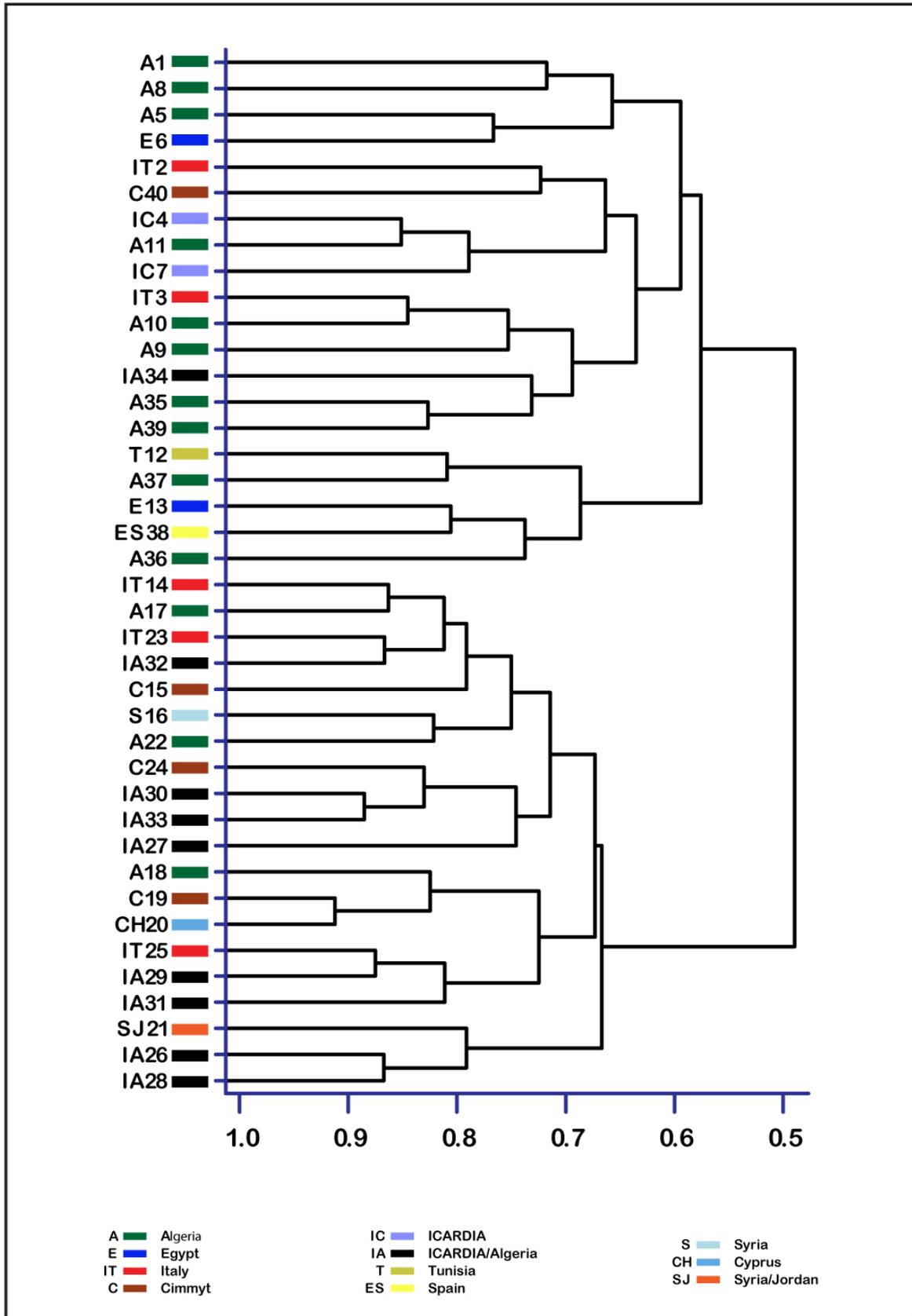


Figure. 40 Dendrogramme des génotypes étudiés basé sur leurs provenances

Conclusion Générale

Conclusion générale et perspective

Notre travail était basé sur les aspects physiologiques et agronomiques pour l'étude de la tolérance à la sécheresse qui était par la suite complété par un marquage moléculaire et une étude d'association dont le but est de déterminer la génétique de la variation phénotypique de cette espèce. La première étape de ce travail consistait en l'utilisation des traits physiologiques, vue leur importance autant que critères de sélection et leur utilisation dans le criblage des génotypes adaptés et performants dans les conditions intrinsèques du milieu. A l'échelle cellulaire, l'effet du stress hydrique sur les fonctions physiologiques et métaboliques des plantes de blé dur se traduit par une baisse significative de la photosynthèse, la transpiration et du taux de chlorophylle chez l'ensemble des variétés étudiées. Les plantes de blé sous stress hydrique réagissent par une baisse de leur teneur en chlorophylle totale qui peut être dû à une dilution suite au maintien d'une teneur relative en eau élevée. Cette baisse est d'autant plus importante que l'intensité du stress est plus accentuée.

La caractérisation biochimique des plantes de blé permet de distinguer les plantes les plus tolérantes à la sécheresse. Ainsi, pour garder le potentiel de turgescence aussi élevé que possible, les variétés de blé dur étudiées ont accumulé certains osmotocums à l'intérieur de leurs cellules dont la proline et les sucres. Cette augmentation de la concentration, qui était très nette au niveau de la variété locale guemgoum r'kham pour les sucres solubles et chez les variétés Béliouni et Gta dur pour la proline, peut être due au phénomène de l'osmorégulation. En effet les sucres, même s'ils représentent des osmotocums beaucoup moins puissants, participent également au maintien de la balance de la force osmotique pour garder la turgescence et le volume cytosolique aussi élevés que possible (Bouzoubaa *et al.*, 2001). Ils permettent également une préservation de l'intégrité membranaire dans les organes desséchés ainsi qu'une protection des protéines (Darbyshire, 1974).

Du point de vue agronomique, l'adaptation à la sécheresse est la capacité d'une plante à maintenir un rendement à travers des environnements où les périodes de sécheresse, leurs durées et leurs intensités sont fluctuantes. Les résultats obtenus montrent que le rendement en grain, en matière sèche par plante et en biomasse totale varie significativement entre les différentes variétés étudiées. Les rendements les plus élevés ont été enregistrés chez la variété Gta dur. Plusieurs corrélations ont été établies dans notre analyse tel que la teneur en proline, les sucres solubles et le potentiel osmotique (0.69, 0.79 et 0.89) respectivement ainsi que des corrélations négatives avec les composantes de rendement tel que le nombre de

plants par mètre carré (-0.79). Ce qui a été démontré par (Clark et Romagosa, 1991) et que selon cet auteur un faible taux de déperdition d'eau est associé à un rendement en grain plus élevé en cas de sécheresse.

Cependant nos résultats montrent que la réponse de blé dur à un stress hydrique se manifeste par des transformations remarquées au niveau des parties aériennes. En effet, les plantes stressées subissent un retard dans la croissance végétale qui se traduit par une réduction de la hauteur et de la surface foliaire. La réduction de la surface foliaire contribue à limiter les pertes d'eau par transpiration (Alves et Setter, 2000). Ce phénomène est considéré comme un mécanisme de résistance à la sécheresse comme le montre Arrandeu (1989) et Lefi *et al.* (2004). Toute fois une diminution de la surface foliaire peut affecter le rendement à cause de la réduction de la capacité photosynthétique (Lefi *et al.*, 2004).

Parmi les changements qualitatifs que subit la plante pendant sa vie, le plus important de tous est certainement l'épiaison, la durée semis épiaison dépend exclusivement de la température et de la luminosité (Fisher, 1985). Les résultats obtenus pour ce caractère montre une variabilité génotypique hautement significative entre les variétés étudiés . le plus long cycle d'épiaison a été noté chez les individus d'origine (ICARDA/Algérie), tandis que la plus courte épiaison a été enregistrée chez les variétés : Benswif, Oued Znatie, Vitron, Gta dur, Bidi17, waha, Cirta et line3d .

La tolérance au stress hydrique, comme la plupart des caractères qui intéressent les sélectionneurs et les agronomes, sont complexes. Ces caractères qui manifestent une variation phénotypique continue, suivant souvent une distribution normale, sont appelés caractères quantitatifs ou complexes et leur hérédité est définie comme polygénique. Le phénotype de ces caractères est déterminé par le génotype et l'environnement. Grâce aux approches statistiques de la génétique d'association , il est possible d'estimer la proportion de la variabilité phénotypique expliquée par les effets des gènes. Chacun des locus qui contribuent à la variabilité génétique de ces caractères est appelé QTL, en anglais « Quantitative Trait Locus ». La génétique d'association et à l'aide des marqueurs moléculaires est une approche, plus récente, basée sur des populations. Cette dernière utilise des collections de populations diverses, constituées d'individus dont les relations ne sont pas souvent connues. Elle exploite un nombre d'événements de recombinaison. Ces recombinaisons sont le résultat d'une accumulation au cours de l'histoire évolutive des collections de population utilisée. Cette

étude a permis de mettre en évidence une association significative entre le phénotype et le marqueurs moléculaires utilisés.

Nos résultats montrent que la majorité des marqueurs sont significativement associés avec les traits étudiés et sont localisés sur le chromosome 4B . Des résultats antérieurs (Maccaferri et al, 2008 ; Diab et al 2008) , ont identifiés par une analyse d'association , plusieurs loci positivement corrèles avec les traits morphophysiologiques de tolérance à la sécheresse et la date à l'épiaison(Bousba. R et al, 2012b). Ainsi que Diab et al 2008 ont montré l'existence chez le blé sur le chromosome 4B de plusieurs gènes de résistance à la sécheresse tel que les (XBM816640, XBM816848 et XBM816121). Aussi plusieurs recherches antérieures ont mis en évidence l'importance de cette région du chromosome 4B, pour la tolérance à la sécheresse chez le blé dur. le nombre des associations significatives indiquant les présences de QTLs a varié de un à huit QTLs par caractère. Certains loci ont été spécifiques au rendement, notés chez les variétés tolérantes aux conditions du milieu avec une production plus ou moins importante, tel que la variété, hedba, Cirta, Haurani, Amar, belioni Chen's, vitron, Djenah khotifa et Tell75 et productive tel que (Mrf1/Stj2//Gdr2/Mgn1) et (Oss1/Stj5/5/Bidra1/4/Bezaiz-SHF//SD-19539/Waha/3/Stj/Mrb3). Il s'agit des marqueurs (*WMS375*, *WMC165*, *WMS149*, *WMC153*, *WMS30*, *WMS118* , *WMC54* , *WMS304*,, *WMC177*, *WMC54*et *WMS375* , , *WMS169*) qui sont impliqués respectivement dans la variation du rendement et ses composantes . Par contre les marqueurs *WMS6* et *WMC445* ont été spécifiques au caractère phénologique (Date d'épiaison), d'autres marqueurs sont communs et associé à deux caractères à la fois ; au rendement et au caractère morphologique (la hauteur de la plante) tel que le marqueur *WMC177*. Ce qui montre que, Le nombre de QTL détectés dépendra du nombre de gènes impliqués et de leur effet sur le caractère (Gallais et Rives, 1993). Si dans une population, il existe un QTL à fort effet, les QTL à faible effet risquent d'être masqués. Plus il y a de gènes impliqués et plus l'influence de chaque gène sur le caractère sera susceptible d'être faible. Quand seuls quelques gènes affectent le caractère, la détection de QTL sera plus facile que quand de nombreux gènes sont impliqués car les effets individuels seront plus élevés (Doerge et al., 1997). (Kearsey et Farquhar, 1998). Donc estimer le nombre de gènes impliqués dans la détermination d'un caractère quantitatif n'est pas facile car ils ne sont pas tous détectés lors de la recherche de QTL (Gallais et Rives, 1993).

Le polymorphisme génétique d'une population représente la réserve de variabilité nécessaire qui permet à la population de s'adapter à de nouvelles conditions du milieu. Dans

cette étude toutes les amorces utilisées ont généré des profils polymorphes, au total 136 allèles ont été obtenus avec une moyenne de 13 allèles /locus et un indice de diversité génétique variable et significatif. La variation a été aussi consolidée par une analyse de la variance moléculaire (AMOVA), cette analyse a décelé un pourcentage très élevé (83%) de la variabilité des loci SSR qui est attribuée à la variabilité inter régions et seulement 17% de cette Variabilité a été entre les régions. ainsi que la corrélation entre la matrice de similarité moléculaire et phénotypique a décelé une corrélation hautement significative.

En perspective, une stratégie basée sur des essais multilocaux serait réalisée en mettant des variétés à pousser sur des sols autres que sur des sols d'origine. De cette manière nous pourrions espérer mieux comprendre les mécanismes qui permettent l'adaptation d'une plante à son environnement abiotique.

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

Abadi, H., El djaafari S., JBort., J.Luis.Araus., 2003. Comparaison of flag leaf and ear photosynthesis with biomass and grain yield of durum wheat under various water conditions. *Journal of Agro*, **24** : (2004) . PP: 19 – 20.

Abdel-Hady M.S. et H M.H. El-Naggar, 2007. Wheat Genotypic Variation and Protein Markers in Relation with *in Vitro* Selection for Drought Tolerance. *Journal of Applied Sciences Research*, 3(10): 926-934.

Abdel-Hady, M.S., O.E. El-Sayed, E.A.M. Solaiman, R.M. Esmail and A.H.M. Hassan. 2001. Genetic detection of protein markers in some drought tolerant wheat cultivars regeneration from somatic embryogenesis. *J. Agric. Sci. Mansoura Univ.*, **26**: 5981-5997.

Anderson, O.D., Litts, J.C. & Greene, F.C. 1997. The a-gliadin gene family. Characterization of ten new wheat a-gliadin genomic clones, evidence for limited sequence conservation of flanking DNA, and Southern analysis of the gene family. *Theor. Appl. Genet.* **95**:50-58.

Ashraf, M. and Foolad, M.R., 2007. Roles of Glycine Betaine and Proline in Improving Plant Abiotic Stress Resistance, *Environ. Exp. Bot.* **59**: 206–216.

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), 194p.

Austin, S., Koegel, R-G., Mathews, D., Shahan, M., Straub, R.J. & Burgess, R.R.1994. Overview of a feasibility study for the production of industrial enzymes in transgenic alfalfa. *Annals of the New York Academy of Science Recombinant DNA Technology* 11 721 :234-245.

Bae H., Kim S H., Kim M S., Sicher R C., Lary D., Strem M D., Natarajan S.,Bailey B A., 2008. The drought response of *Theobroma cacao* (cacao) and the regulation of genes

involved in polyamine biosynthesis by drought and other stresses. *Plant Physiology and Biochemistry* 46:174-188.

Bajji M., Lutts S., Kinet J M., 2001. Water deficit effects on solute contribution to osmotic adjustment as a function of leaf ageing in three durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars performing differently in arid conditions. *Plant Science* 160:669–681.

Beccari, J.B. 1745. De frumento. De bononiensi scientarium et artium. Instituto atque Acadernia Commentarii, *Bologna* 2: 122-1 27.

Beck E H., Fettig S., Knake C., Hartig K., Bhattarai T., 2007. Specific and unspecific responses of plants to cold and drought stress. *Journal Bioscience* 32 (3):501–510.

Belkhir ,K.(1999). GENETIX, version 4.0. A Windows program for population genetics analysis. Laboratoire Genome Populations, et interactions. CNRS UPR 9060, Université Montpellier II. Montpellier, France.

Bencharif A, Chaulet C, Chehat F, Kaci M, Sahli Z. , 1996 La filière blé en Algérie. Le blé, la semoule et le pain. Paris : Karthala. *Biointerfaces* 45:131–135.

Börner A, Schumann E, Fürste A, Cöster H, Leithold B, Röder MS, Weber WE. 2002. Mapping of quantitative trait loci determining agronomic important characters in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 105: 921-936.

Bousba R., A.Djekoun, AEK.Benbelkacem N.S. Kacem et N.Ykhlef ; 2011. Osmoregulation et osmoprotection des cellules foliaires de blé dur (*Triticum durum* Desf) sous condition de deficit hydrique. Congrès International sur l’Aide à l’Agriculture Algérienne, UBMA Annaba .

Bousba R., Djekoun A. et Ykhlef ,2010. Identification des marqueurs biochimiques et physiologiques de la tolérance à la sécheresse chez le blé dur *Triticum durum* Desf . *Actes du 3ème Meeting International “Aridoculture et Cultures Oasisennes : .Meeting international sur l’aridoculture et les cultures oasiennes : gestion et valorisation des ressources et applications biotechnologiques dans les agrosystèmes arides et saharien. Djerba tunisie. Revue des Régions Arides – Numéro spécial – 24 (2/2010)*

Bousba R., M. Baum, A. Djekoun, S. Labadidi, A. Djighly, A. Benbelkacem, M. labhilili, F. Gaboun and N. Ykhlef, 2012a. screening for Drought Tolerance Using Molecular Markers and Phenotypic Diversity in Durum Wheat Genotypes. *W A SJ* **16** (9): 1219-1226.

Bousba R., M. Baum, A. Djekoun, S. Labadidi, A. Djighly, A. Benbelkacem, M. labhilili, F. Gaboun and N. Ykhlef, 2012b. association analysis of drought tolerance in durum wheat using simple sequence repeat (SSR) markers and phenotypic data. 1ere journée scientifique du département des sciences agronomiques Univ Ferhat abbas Sétif.

Bousba. R., Djekoun A and Ykhlef N. ,2009a. water user efficiency and flag leaf photosynthetic in response to water deficit of durum wheat (*Triticum durum Desf*). *J. World Journal of Agricultural Sciences* **5**(5): 609-616.

Bousba. R., Ykhlef N., Djekoun A, K. Kedissa et A. Boulaassel; 2009b. Identification des traits agro morphologiques et physiologiques d'adaptation du blé dur (*Triticum durum Desf*) à la sécheresse. Colloque International de Biologie Environnementale. Université 20 Août 55 Skikda.

Bousba. R., Djekoun A and Ykhlef N. 2006a. Efficience hydrique et sénescence foliaire chez le blé dur (*Triticum durum Desf*) sous contrainte hydrique : analyse de la variabilité génotypique. X ème journées scientifiques du réseau " Biotechnologies végétales: amélioration des plantes et sécurité alimentaire" de l'AUF. 149- 150.

Bousba. R., Djekoun A and Ykhlef N. 2006b. Physiological traits and growth responses of durum wheat (*Triticum durum Desf*) to water deficit . 1st international Egyptian -Jordanian Conference. 261-264.

Bousba.R , 2006c . Effet d'une contrainte abiotique (stress hydrique) sur les composants biochimiques de la graine de *Vicia faba* L. Workshop international sur la diversité des fabacées fourragères et leurs symbiotes: Applications biotechnologiques, agronomiques et environnementales . 239-242.

Bouzoubaa, Z., El Mourid, M., Karrou, M. et El Gharous, M. 2001. *Manuel d'analyse chimique et biochimique des plantes.* Eds INRA Maroc.

- Bradford, M, 1976.** A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* (USA). **72**, 248-254.
- Bramley H., Turner D W., Tyerman S D.,Turner N C., 2008.** Water Flow in the Roots of Crop Species: The Influence of Root Structure, Aquaporin Activity, and Waterlogging, p. 133-196. *In* Elsevier (Ed.), *Advances in Agronomy*.
- Bray E A., 2002.** Abscisic acid regulation of gene expression during water deficit stress in the era of the Arabidopsis genome. *Plant, Cell and Environment* **25**:153–161.
- Brini F., Hanin M., Lumbreras V., Irar S., Pages M.,Masmoudi K., 2007.** Functional characterization of DHN-5, a dehydrin showing a differential phosphorylation pattern in two Tunisian durum wheat (*Triticum durum* Desf.) varieties with marked differences in salt and drought tolerance. *Plant Science* **172**:20–28.
- Bruxelles GL, Peacock WJ, Dennis ES, Dolferus R, 1996.** Abscisic acid induces the alcohol dehydrogenase gene in Arabidopsis. *Plant Physiol.* **111**: 381-391.
- Chartzoulakisa K, Patakasb A, Kofidisc G,Bosabalidisc A, Nastoub A, 2002.** Water stress affects leaf anatomy, gas exchange,water relations and growth of two avocado cultivars. *Scientia Horticulturae* **95** : 39–50.
- Cha-um. S et Kirdmanee. C, 2008.** effect of osmotic stress on proline accumulation, photosynthetic abilities and growth of sugarcane plantlets (*saccharum officinarum* l.) *Pak. J. Bot.*, **40**(6): 2541-2552.
- Christmann A., Moes D., Himmelbach A., Yang Y., Tang Y.,Grill E., 2006.** Integration of Abscisic Acid Signalling into Plant Responses. *Plant Biology* **8**:314–325.
- CIC, 2010.** Les statistiques mondiales, calculées par le Conseil International des Céréales. J.
- CNIS.2005.** Agriculture algérienne.Les statistiques.[http ://www.douanes.cnis.dz](http://www.douanes.cnis.dz).

Cochard H, Coll L, Roux X L, and Ameglio T. 2002. Unraveling the Effects of Plant Hydraulics on Stomatal Closure during Water Stress in Walnut. *Plant Physiology*, **128** : 282-290.

Dagnélie, P., 1986. Analyse statistique à plusieurs variables Gembloux, Presses agronomiques. 362 p.

Dagnélie, P., 2006. Statistique théorique et appliquée. Tome 2:Inférences à une et à deux dimensions. Bruxelles, université de Boeck et Larcier. 659 p.

David, J.C. et Grongnet, J.F. 2001. Les protéines de stress. *INRA Prod. Anim.*, 14(1): 29-40.

Davies WJ, Wilkinson S, Loveys B, 2002. Stomatal control by chemical signalling and the exploitation of this mechanism to increase water use efficiency in agriculture. *New Phytologist* **153**: 449-460.

De Vienne D. & Causse M. 1998. La cartographie et la caractérisation des locus contrôlant la variation des caractères quantitatifs”, De Vienne éd., *Les marqueurs moléculaires en génétique et biotechnologies végétales, Edition INRA*, pp 89-118.

De Vienne D. et S. Santoni, 1998. « Les principales sources de marqueurs moléculaires », dans *Les marqueurs moléculaires en génétique*, p. 49-79.

Diab AA, Kantety RV, Ozturk NZ , Benscher D, Nachit MM, Sorrels ME, 2008. Drought-inducible genes and differentially expressed sequence tags associated with components of droughttolerance in durum wheat. *Sci Res Essays* **3**: 9-26.

Díaz-Pérez, J.C., K.A. Shackel, and E.G. Sutter, 1995. Relative water content and water potential of tissue-cultured apple shoots under water deficits. *J. Exp. Bot.* **46**:111-118.

Djekoun.A et Ykhlef,N, 1996. Déficit hydrique , effets stomatiques et non stomatiques et activité photosynthétique chez quelques génotypes de blé Tetraploides 3 eme réunion du réseau SEWANA, de blé dur IAV Hassan II du 6 Decembre 1996.

Doerge R.W., Z-B. Zeng and B.S. Weir, 1997. Statistical issues in the search for genes affecting quantitative traits in experimental populations. *Statistical Science.* **12**(3):195-219.

Dolferus R, Osterman JC, Peacock WJ, Dennis ES , 1997. Cloning of the arabidopsis and rice formaldehyde dehydrogenase genes: Implications for the origin of plant ADH enzymes. *Genetics* **146**: 1131–1141.

Dubois, M., K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A .Rebers, and F. Smith. 1956. Calorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* **28**: 350 -356.

Dreier, W. et Göring, M. 1974. Der einfluss hoher salzkonzentration auf verschieden physiologische parameter von maiswurzeln. *Win Z. der HU Berlin, Nath. Naturwiss. R., 23* : 641-644.

Eleuch L, Jilal A, Grando S, Ceccarelli S, Schmising M K, Tsujimoto H, Amara H, Daaloul A and M Baum, 2008. Genetic Diversity and Association Analysis for Salinity Tolerance, Heading Date and Plant Height of Barley Germplasm Using Simple Sequence Repeat Markers. *Journal of Integrative Plant Biology*, **50** (8): 1005–1015.

Evans, LE., Shebeski, L.H., McGinnis, R.C., Briggs, K.G. & Zuzens, D.1972. Glenlea red spring wheat. *Can. J. Plant Sci.* **52**:1081-1082.

Fana X W., Lia F M., Xionga Y C., Ana L Z.,Longa R J., 2008. The cooperative relation between non-hydraulic root signals and osmotic adjustment under water stress improves grain formation for spring wheat varieties. *Physiologia Plantarum* **132**:283–292.

FAO.1999. FAO Yearbook Production53

FAO, 2004. Site des données statistiques de la FAO: www.faostat.fao.org .

Flint-Garcia, S.A. J. M. Thornsberry, et E. S. Buckler . 2003. Structure of linkage disequilibrium in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* **54**, 357–374.

Galiba G., Kocsy G., Kaur-Sawhney R., Sutka J.,Galston A W., 1993. Chromosomal localization of osmotic and salt stress-induced differential alterations in polyamine content in wheat. *Plant Science* **92**:203-211.

Galili, G. Altschuler, Y. & Leavanony, H. 1993. Assembly and transport of seed

storage proteins. *Trend Cell Biol.* **3**: 437- 443.

Gallais A, Rives M, 1993. Detection, number and effects of QTLs for a complex character. *Agronomie* **13**: 723-738

Ghasempour, H. R., A. A. Hojatjalali and A.R. Rangin, 2007. Physiological changes, praline, total protein, protein analysis and potassium of the sugar beet plants in response to Beet cyst Nematodes, *Heterodera schachtii*. *Int. J.Bot.*, pp: 1-6.

Goldstein DB, Schlotterer C,1999. Microsatellites. Evolution and applications. Goldstein and Schlotterer eds, Oxford University Press

Green T H., Mitchell R J.,Gjerstad D H., 1994. Effects of nitrogen on the response of loblolly pine to drought. II. Biomass allocation and C : N balance. *New Phytologist* **128** :145-152.

Grieu Philippe, Pierre Maury, Philippe Debaeke), Ahmad Sarrafi. 2008. Améliorer la tolérance à la sécheresse du tournesol : apports de l'écophysiologie et de la génétique *Innovations Agronomiques.* **2**: 37-51.

GIEC, 2002 . les changements climatiques et la biodiversité : Document technique V de GIEC technical reports.

Gu Z., Ma B., Jiang Y., Chen Z., Su X.,Zhang H., 2008. Expression analysis of the calcineurin B-like gene family in rice (*Oryza sativa* L.) under environmental stresses. *Gene* **415** :1-12.

Gupta S.A. and G.A. Berkowitz, 1987. Osmotic adjustment, symplast volume, and nonstomatally mediated water stress inhibition of photosynthesis in wheat. *Plant Physiol.* **87**:1040-1047.

Gupta RB and KW Shepherd ,1990. Two-step one-dimensional SDS-PAGE analysis of LMW subunits of glutenin. 1. Variation and genetic control of the subunits in hexaploid wheat. *Theor Appl Genet* **80**: 65-74.

Gupta, R.B., Bekes, F. & Wrigley, C.W, 1991. Prediction of physical dough properties from glutenin subunit composition in bread wheats: Correlation studies. *Cereal Chem.* **64** :328-333.

Hansen J, MS Makiko, R Reto, L Ken, WL David, and ME Martin, 2006. Global

Hare, P.D., Cress, W.A. and Staden, J.V., 1998. "Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress." *Plant, Cell Environ.* **21**(6): 535-553.

Hu H., Dai M, Yao J., Xiao B, Li X., Zhang and Q.,Xiong L., 2006. Overexpressing a NAM, ATAF, and CUC (NAC) transcription factor enhances drought resistance and salt tolerance in rice. *Agricultural sciences* **103** (35):12987–12992.

Huang XQ, Cöster H, Ganai MW, Röder MS, 2003. Advanced backcross QTL analysis for the identification of quantitative trait loci alleles from wild relatives of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics* **106**: 1379-1389.

Huseynova I M., Suleymanov S Y.,Aliyev J A., 2007. Structural–functional state of thylakoid membranes of wheat genotypes under water stress. *Biochimica et Biophysica Acta* **1767**:869–875.

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* **10** :18.

Kacperska A., 2004. Sensor types in signal transduction pathways in plant cells responding to abiotic stressors: do they depend on stress intensity. *Physiologia Plantarum* **122** :159–168.

- Kasarda, D.D. 1989.** Glutenin structure in relation to wheat quality, pages 277- 302,in: Wheat is unique. Pomeranz, Y, eds., Am. Assoc. Cereal **Chern.**, St Paul, MN.
- Kato-Noguchi H ,2000.** Osmotic stress increases alcohol dehydrogenase activity in maize seedlings. *Biol. Plant.* **43**: 621-624.
- Kaur N. & Gupta A.K, 2005.** Signal transduction pathways under abiotic stresses in plants. *Current Science* **88**, 1771–1780.
- Kawaguchi R., Girke T., Bray E A and Bailey-Serres J., 2004.** Differential mRNA translation contributes to gene regulation under non-stress and dehydration stress conditions in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Journal* **38**: 823-839.
- Kyparassis A. Y. Petropoulou .Y. Manetas, 1995.** Summer survival of leaves in a soft leaved shrub under mediterranean field conditions : avoidance of photoinhibitory damage through decreased chlorophyll contents . *Journal of. Exp. Bot* **43**: 1825- 1831.
- Labhili M., Joudrier P and Gautier M F., 1995.** Characterization of cDNAs encoding *Triticum durum* dehydrins and their expression patterns in cultivars that differ in drought tolerance. *Plant Science* **112**:219-230.
- Lakew B, Henry ., R J , Ceccarelli, S . Grando .S, J, Eglinton , M. Baum , 2012.** Genetic analysis and phenotypic associations for drought tolerance in *Hordeum spontaneum* introgression lines using SSR and SNP markers. *Euphytica* . DOI [10.1007/s10681-0674-4](https://doi.org/10.1007/s10681-0674-4).
- Lamark T., Kaasen I., Eshoo M W., Falkenberg P., McDougall J.,and Strom A R., 1991.** DNA sequence and analysis of the bet genes encoding the osmoregulatory choline-glycine betaine pathway of *Escherichia coli*. *Molecular Microbiology* **5**:1049–1064.
- Larbi, A., Mekliche, A., Abed, R. and Badis, M, 2000.** Effet du déficit hydrique sur la production de deux variétés de blé dur (*Triticum turgidum* L. var. *durum*) en région semi-aride. *Options Méditerranéennes, Series A*, **40**: 295-297.

Lefi E., Gulias J., Cifre J., Ben Yones M. et Medrano H. 2004 . Drought effects on the dynamics of leaf production and senescence in field-grown *Medicago arborea* and *Medicago citrina*. *Ann.Appl. Biol.* **144** : 176 -196.

Ma Q Q., Wangb W., Li Y H and Li D Q.,Zou Q., 2006. Alleviation of photoinhibition in drought-stressed wheat (*Triticum aestivum*) by foliar- applied glycinebetaine. *Journal of Plant Physiology* **163**: 165-175.

Maccaferri M, Sanguineti MC, Natoli V, Ortega JAL, Salem MB, Bort J , 2006. A panel of elite accessions of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) suitable for association mapping studies. *Plant Genet Resour* 4:79–85.

Maccaferri M, Sanguineti MC, Corneti S, Ortega JLA, Ben Salem M, Bort J, DeAmbrogio E, del Moral LFG, Demontis A, El-Ahmed A, Maalouf F, Machlab H, Martos V, Moragues M, Motawaj J, Nachit M, Nserallah N, Ouabbou H, Royo C, Slama A, Tuberosa R, 2008. Quantitative trait loci for grain yield and adaptation of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) across a wide range of water availability. *Genetics*, **178**: 489-511.

Mackay J . 1968 . Species relation in *Triticum* . Proc 2nd International wheat genetic Symposium. *Hereditas* , 2 :237 - 276.

MacKay TFC, E Stone, and J Ayroles, 2009. The genetics of quantitative traits: Challenges and prospects. *Nature Reviews Genetics* **10**: 565-577.

MacRitchie, F. 1985. Studies of methodology for fractionation and reconstitution of wheat flours. *J. Cereal Sci.* 3:221-230.

MacRitchie, F., du Gros, D.L. & Wrigley, C.W. 1990. Flour Polypeptides Related to Wheat Quality. Pages 79-133, in: *Advance in Cereal Science and Technology*, Pomeranz, y. (eds.), Am. Assoc. *Cereal Chem.* St. Paul.

Maggie L. 2000 Le blé dur en Afrique du Nord. Agriculture et Agro-alimentation Canada (AAC). Pub. division analyse du marché, Bulletin bimensuel, vol. 13 : 2000. <http://www.agr.ca/policy/win/biweekly/index.htm>.

Majoul. T, 2004. Étude par l'analyse protéomique de l'effet du stress thermique sur la composition et la quantité du grain de blé. Thèse de doctorat en sciences biologiques . 117.

Mantel NA, 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Res* **27**: 209-220.

Martre Pierre, Gretchen B. North, Edward G. Bobich and Park S. Nobel, 2002

Root Deployment and Shoot Growth for Two Desert Species in Response to Soil Rockiness. *American Journal of Botany*. **89**: 1933-1939

Marza F, Bai G-H, Carver BF, Zhou W-C, 2006. Quantitative trait loci for yield and related traits in the wheat population Ning7840 X Clark. *Theoretical and Applied Genetics* **112**: 688-698.

Mokhtar Guerfel , Olfa Baccouri , Dalenda Boujnah , Wided Char'bi , Mokhtar Zarrouk , 2009. Impacts of water stress on gas exchange, water relations, chlorophyll content and leaf structure in the two main Tunisian olive (*Olea europaea* L.) cultivars .*Scientia Horticulturae* **119** : 257–263.

Monneveux P. 1991. Quelles strategies pour l'amélioration génétique de la tolérance à un déficit hydrique des céréales les "outils d'amélioration des plantes par l'adaptation aux milieux arides. AUPELI'-UREF. JOHN LIBBEY Eurotesr. pp. 165-186.

Morgan, J.M., 1984 .Osmoregulation and Water Stress in Higher Plants, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol.Biol.* **35** :299–319.

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

Nylander M, Svensson J, Palva ET, Welin BV. 2001. Stress-induced accumulation and tissue-specific localization of dehydrins in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Mol Biol* **45**(3):263-79.

- Nayyar H., 2003.** Accumulation of osmolytes and osmotic adjustment in waterstressed wheat (*Triticum aestivum*) and maize (*Zea mays*) as affected by calcium and its antagonists. *Environmental and Experimental Botany* **50**:253-264.
- Nayyar, H. and Chander, S., 2004.** "Protective Effects of Polyamines against Oxidative Stress Induced by Water and Cold Stress in Chickpea." *Journal of Agronomy and Crop Science* **190** (5): 355-365.
- Ogawa A. and A. Yamauchi, 2006.** "Root Osmotic Adjustment under Osmotic Stress in Maize Seedlings. 2. Mode of Accumulation of Several Solutes for Osmotic Adjustment in the Root," *Plant Production Sciences*, Vol. **9** (1): 39-46.
- Osborne, T.B. 1924.** The vegetable proteins. Longmans, Green. London
- Parida, A.K., Das, A.B., and Das, P., 2002.** NaCl Stress Causes Changes in Photosynthetic Pigments, Proteins, and Other Metabolic Components in the Leaves of a True Mangrove, *Bruguiera parviflora*, in Hydroponic Cultures, *J. Plant Biol.*, vol. **45** : 28–36.
- Payne, P.I. & Corfield, KG. 1979.** Subunit composition of wheat glutenin proteins, isolated by gel filtration in a dissociating medium. *Planta*. **145**:83-88.
- Payne, P.I. 1987.** Genetic of wheat storage proteins and the effect of allelic Variation on bread-making quality. *Ann. Rev. Plant. Physiol.* **38**:14 -23.
- Payne, P.I. 1987.** Genetic of wheat storage proteins and the effect of allelic Variation on bread-making quality. *Ann. Rev. Plant. Physiol* **38** : 141 -153.
- Payne, P.I., Nightingale, M.A., Kratiiger, A.F. Holt, LM. 1987.** The relationship between HMW glutenin subunit composition and the bread-making quality of British-grown wheat varieties. *J. Sci. Food Agric.* **40**:51-65.

- Pirzad . A, Shakiba M. R, Salmasi. S Z, S A Mohammadi, R Darvishzadeh1 and A Samadi, 2011.** Effect of water stress on leaf relative water content, chlorophyll, proline and soluble carbohydrates in *Matricaria chamomilla* L. *Journal of Medicinal Plants Research* . **5**(12) : 2483-2488.
- Pritchard, J. K., M. Stephens and P. Donnelly, 2000** Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* **155** : 945– 959.
- Quan R., Shang M., Zhang H., Zhao Y.,Zhang J., 2004.** Engineering of enhanced glycine betaine synthesis improves drought tolerance in maize. *Plant Biotechnology Journal* **2**: 477–486.
- Quarrie SA, Quarrie SP, Radosevic R, Rancic D, Kaminska A, Barnes JD, Leverington M, Ceoloni C, Dodig D, 2006.** Dissecting a wheat QTL for yield present in a range of environments: from the QTL to candidate genes. *Journal of Experimental Botany* **57**(11): 2627-2637.
- Quarrie SA, Steed A, Calestani C, Semikhodskii A, Lebreton C, Chinoy C, Steele N, Pljevljakusic D, Waterman E, Weyen J, Schondelmaier J, Habash DZ, Farmer P, Saker L, Clarkson DT, Abugalieva A, Yessimbekova M, Turuspekov Y, Abugalieva S, Tuberosa R, Sanguineti M-C, Hollington PA, Aragues R, Royo A, Dodig D , 2005.** A high-density genetic map of hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) from the cross Chinese Spring X SQ1 and its use to compare QTLs for grain yield across a range of environments. *Theoretical and Applied Genetics*. **110**: 865-880.
- Ramanjulu S., et Bartels D., 2002.** Drought- and desiccation-induced modulation of gene expression in plants. *Plant, Cell and Environment* **25**:141–151.
- Rampino P., Pataleo S., Gerardi C., Mita G.,Perrotta C., 2006.** Drought stress response in wheat: physiological and molecular analysis of resistant and sensitive genotypes. *Plant, Cell and Environment* **29**: 2143–2152.

Rizhsky L., Liang H., Shuman J., Shulaev V., Davletova S. & Mittler R. 2004. When defense pathways collide. The response of *Arabidopsis* to a combination of drought and heat stress. *Plant Physiology* **134**:1683–1696.

Robredo A., Perez-Lopez U., Sainz de la Maza H., Gonzalez-Moro B., Lacuesta M., Mena-Petite A., Munoz-Rueda A., 2007. Elevated CO₂ alleviates the impact of drought on barley improving water status by lowering stomatal conductance and delaying its effects on photosynthesis. *Environmental and Experimental Botany* **59**:252–263.

Roider, M.S., V. Korzum, K. Wendehake, J. Plaschke, M. Tixier, P. Leroy, and M.W. Ganal, 1998. A microsatellite map of wheat., *Genetics* **149**:2007–2023.

Rong-hual LI, GUO Pei-pol, Michael Baumz, Stefania Grand and Salvatore Ceccarelli, 2006. Evaluation of chlorophyll content and fluorescence parameters as indicators of drought tolerance in barley *Agricultural Sciences in China* **5**(10): 751-757.

Rouverou P. 1930. Statistique de la production des céréales en Algérie. Céréales d'Algérie. Gouv Gen Alg Direct Agric Colon 1930 : 2-58.

Roy J. K., R. Bandopadhyay¹, S. Rustgi¹, H. S. Balyan¹ and P. K. Gupta, 2006. Association analysis of agronomically important traits using SSR, SAMPL and AFLP markers in bread wheat J. K. *Current science*. **90**. 5.

Safarnejad, A. 2008. Morphological and biochemical responses to osmotic stress in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Pak. J. Bot.*, **40**: 735-746.

Saghai-Marooif M A., Soliman K M., Jorgensen R A., Allard R.W., 1984. Ribosomal DAN spacer-length polymorphisms in barley : Mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* **81**:8014-8018.

Saijo Y., Hata S., Kyozuka J., Shimamoto K., Izui K., 2000. Over-expression of a single Ca²⁺ dependent protein kinase confers both cold and salt/drought tolerance on rice plants. *Plant Journal* **23**:319–327.

Sakamoto A., et Murata N., 2002. The role of glycine betaine in the protection of plants from stress: clues from transgenic plants. *Plant, Cell and Environment* **25**:163–171.

Sankar, B., C.A. Jaleel, P. Manivannan, A. Kishorekumar, R. Somasundaram and R. Panneerselvam. 2007. Drought-induced biochemical modifications and proline metabolism in *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench. *Acta. Bot. Croat.*, **61**: 43-56.

Sarda X. Vansuyt G ., Touch D, Casse delabard F and Lamaze T , 1992. Les signaux racinaires de la regulation stomatique . IN tolerance à la secheresse des cereales en zone mediterrenienne : diversité genetique et amelioration variétal . seminaire Montpellier , France . 15- 17 decembre 1992.

Schachtman D P., et Goodger J Q D., 2008. Chemical root to shoot signaling under drought. *Trends in Plant Science*. **13** (6) :281– 287.

Seki M, Umezawa T, Urano K, Shinozaki K , 2007. Regulatory metabolic networks in drought stress responses. *Current Opinion in Plant Biology* **10** : 296–302.

Serraj R., et Sinclair T R., 2002. Osmolyte accumulation: can it really increase crop yield under drought conditions. *Plant, Cell & Environment* **25**:333–341.

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

Shao H B., Chen X Y., Chu L Y., Zhao X N., Wu G., Yuan Y B., Zhao C X.,Hu Z M., 2006a. Investigation on the relationship of proline with wheat anti- drought under soil water deficits. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **53** :113– 119.

Shao H B., Liang Z S.,Shao M., 2006b. Osmotic regulation of 10 wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes at soil water deficits. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **47**:132–139.

Shao H B., Chu L Y., Jaleel C A.,Zhao C X., 2008. Water-deficit stress- induced anatomical changes in higher plants. *Comptes rendus Biologies* **331**:215–225.

Shewry, P.R., Tatham, A.S., Forde, J., Kreis, M. & Mifflin, B.J. 1986. The classification and nomenclature of wheat gluten proteins: a reassessment. *J. Cereal Sci.* **4**:97-106.

Shewry, P.R., & Tatham, AS, 1990. The prolamin storage proteins of cereal seeds: structure and evolution. *Biochem. J.* **267**:1-12.

Shewry, P.R., J.A. Napier & Tatham, A.S, 1995. Seed storage proteins: Structure and Biosynthesis. *Plant Cell* **7** : 945-956.

Shi H., 2007. Integration of Ca²⁺ in plant drought and salt stress signal transduction pathways, p. 141–182. In M.A.J.e. al. (Ed.), *Advances in Molecular Breeding Toward Drought and Salt Tolerant Crops*.

Sinclair, T.R., C.B. Tanner et J.M. Bennett, 1984. Water use efficiency in crop production. *Biol.Sci.* **34** : 36-40.

Singh, N.K., Shepherd, K.W., Cornish, G.B., 1991. A simplified SDS-PAGE procedure for separating LMW subunits of glutenin. *Journal of Cereal Science* **14**, 203-208.

Singh S, G Singh, P.Singh, N.Singh 2008. Effect of water stress at different stages of grain development on the characteristics of starch and protein of different wheat varieties. *Food chemistry* **108** : 130- 139.

Szabados L. and A, Savouré, 2010. “Proline: A Multifunctional Amino Acid,” *Trends in Plant Science.* **15** (2): 89-97 .

Takemura, T., Hanagata, N., Sugihara, K., Baba, S., Karube, I., and Dubinsky, Z., 2000. Physiological and Biochemical Responses to Salt Stress in the Mangrove, *Bruguiera gymnorhiza, Aquat. Bot.,* **68**: 15–28.

Tambussia E A., Bartolia C G., Beltranoa J., Guiameta J J., Araus J L., 2000. Oxidative damage to thylakoid proteins in water-stressed leaves of wheat (*Triticum aestivum*). *Physiologia Plantarum* **108**:398–404.

Thornsberry, J. M., M. M. Goodman, J. Doebley, S. Kresovich et D. Nielsen al., 2001 Dwarf8 polymorphisms associate with variation in flowering time. *Nat. Genet.* **28**: 286–289.

Toth G, Gàspàri Z, and Jurka J ,2000. Microsatellites in different eukaryotic genomes: survey and analysis. *Genome Res* **10** :967–981.

Troll W, Lindsley J. 1955. A photometric method for the determination of proline. *J. Biol Chem* ; **215** : 655-660.

Urao, T., Yakubov, B., Satoh, R., Yamaguchi-Shinozaki, K., Seki, M., Hirayama, T. and Shinozaki, K. 1999 A transmembrane hybrid-type histidine kinase in *Arabidopsis* functions as an osmosensor. *Plant Cell* **11**, 1743-1754.

Urao T., Shinozaki K Y., Shinozaki K., 2000a. Two-component systems in plant signal transduction. *Trends in Plant Science* **5** (2):67-74.

Urao T., Miyata S., Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K., 2000b. Possible His to Asp phosphorelay signaling in an *Arabidopsis* two-component system. *FEBS Letters* **478**:227-232.

Vendruscoloa E C G., Schusterb I., Pileggic M., Scapimd C A., Molinarie H B C., Marure C J., Vieira L G E., 2007. Stress-induced synthesis of proline confers tolerance to water deficit in transgenic wheat. *Journal of Plant Physiology* **164** :1367—1376.

Wang L.W, A. MShowalter, I. A.Ungar, , 1997. effect of salinity on growth, ion content and cellwall in *Atriplex prostrata*, *Am. J. Bot.* **84**: 1247- 1255

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

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, pp. 439-443.

Wilkinson S., et Davies W J., 2002. ABA-based chemical signalling: the co-ordination of responses to stress in plants. *Plant, Cell and Environment* **25**:195–210.

Wrigley. C. W., & Bietz, J.A. 1988. Proteins and amino acids. Pages 159-275 in: Wheat: Chemistry and Technology, vol. I.3rd ed. Y. Pomeranz (eds.). *Am. Assoc. Cereal. Chem.*, St Paul, MN.

Xiong L., et Zhu J K., 2001. Abiotic stress signal transduction in plants: Molecular and genetic perspectives. *Physiologia Plantarum* **112**:152–166.

Xiong L., et Zhu J K., 2001. Abiotic stress signal transduction in plants: Molecular and genetic perspectives. *Physiologia Plantarum* **112**:152–166.

Xu Z Z., Yu Z W., Wang D.,Zhang Y L., 2005. Nitrogen Accumulation and Translocation for Winter Wheat under Different Irrigation Regimes. *J. Agronomy & Crop Science* **191**: 439 - 449.

Xu, S.C. Dai J.Y., Shen, X.Y, Wang L.Z. Cui Q. Zhu Y.L, 1995 . The effect of water stress on maize photosynthetic characters and yield. *Acta Agron. Sin .* **21** :356 - 363 .

Yamasaki, S et Dillenburg.L. R, 1999. measurements of leaf relative water content in *araucaria angustifolia*. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, **11**(2):69-75.

Yao J, Wang L, Liu L, Zhao Z, Zheng Y, 2009. Association mapping of agronomic traits on chromosome 2A of Wheat. *Genetica* **137**(1): 67-75.

Ykhlef N., R. Bousba et A. Djekoun, 2011. Étude de l'influence d'un stress hydrique sur les marqueurs biochimiques et morpho physiologiques de la tolérance chez dix variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf) . Congrès International sur l'Aide à l'Agriculture Algérienne, UBM Annaba.

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

Ykhlef. N et Djekoun. A., 2000. Comportement hydrique , activité photochimique et résistance à la sécheresse chez le blé dur (*Triticum durum* Desf) . actes du 1^{er} symposium international sur la filière blé : blé2000 ; enjeu et stratégie . alger 7 au 9 fevrier 2000pp :155-159.

Ykhlef. N. Djekoun. A., Bensari. M & Vignes D , 1999 ; l'efficacité de l'utilisation de l'eau marqueur physiologique de la résistance à la sécheresse chez le blé dur (*Triticum durum* Desf). *Sciences & technologie* , **10** : 87 - 92 .

Yu H., Chen X., Hong Y Y., Wang Y., Xu P., Ke S D., Liu H Y., Zhu J K., Olive D J and Xiang C B., 2008. Activated Expression of an Arabidopsis HD-START Protein Confers Drought Tolerance with Improved Root System and Reduced Stomatal Density. *Plant Cell*. **20**: 1134-1151.

Yu J., E.S. Buckler, 2006. Genetic association mapping and genome organization of maize, *Curr. Opin. Biotechnol.* **17**: 155–160.

Zarei, L., 2006. Evaluation of physiological indicators of drought tolerance and adaptation in bread wheat. M. Sc Thesis, Razi University, Kermanshah, Iran.

Zerrad W., B.S. Maataoui¹, S. Hilali¹, S. El Antri et A. Hmyene, 2008. Étude comparative des mécanismes biochimiques de résistance au stress hydrique de deux variétés de blé dur *Lebanese Science Journal* **9**: 2- 27.

Zhang Z.J, L.SHI, 2003. Photosynthesis and growth responses of *Parthenococcus quinquefolia* L . plant to soil water availability *J. Photosynthetic* **42** (1) : 87- 92.

Zhu X., Gong H., Chen G., Wang S.,Zhang C., 2005. Different solute levels in two spring wheat cultivars induced by progressive field water stress at different developmental stages. *Journal Arid Environnement* **62**:1–14.

ZhuZ. , Z. M. Pei and H. L. Zheng, 2011. Effect of Salinity on Osmotic Adjustment Characteristics of *Kandelia candel* *Russian Journal of Plant Physiology*, **58**(2): 226–232.

ZISKA L.H., J.R. Seemann, T.M. De jong , 1990. salinity induced limitations on photosynthesis in *Prunus salicinia* , a deciduous tree species , *Plant physiol* **93** : 864- 870 .

Annexes

ANNEXE.1 : Doses et calendrier d'irrigation (ITGC ,1999)

Mois /Saisons	DEC	JAN	FEV	MARS	AVR	MAI	JUIN
Hiver sec	20	20	20	-	-	-	-
Printemps sec	-	-	-	20	40	60	60
stades	Levée	tallage	Fin tallage	Montaison	épiaison	Floraison	Formation du grain

ANNEXE. 2 Réactif de Bradford

-100mg de BBC (bleu de Coomacie)

- 50ml d'éthanol à 50% puis agiter avec un agitateur pendant 2 heures.

- 100ml d'Acide Orthophosphorique à 85% puis compléter par l'eau distillée jusqu'à 1000 ml.
Conserver le mélange dans un flacon sombre dans un réfrigérateur(pendant un mois).

ANNEXE. 3 Solutions utilisées dans l'extraction des gluténines**Solution A**

Propanol-1 50 ml
Eau distillée qsp 100 ml

Solution B (Conservation environ 2 semaines, à 4°C)

Propanol-1 10 ml
Tris HCL 1M pH8 1.6 ml
Eau distillée qsp 20 ml

Solution B1 (à préparer ex temporairement)

Solution B 7 ml
Dithiotreitol 70 mg

Solution B2 (à préparer ex temporairement)

Solution B 7 ml
4-vinyl-pyridine 98 µ l

Solution C (Conservation environ 2 semaines, à 4°C)

SDS 0.2 g
Glycérol 4 ml
Bleu de bromophénol 2 ml
Tris HCL 1M pH8 0.8 ml
Eau distillée qsp 10 ml

Solutions utilisées pour le SDS-PAGE

Solution mère d'acrylamide à 40% (à préparer avec gants et masque)

Acrylamide 40 g
Eau distillée 100 ml

Solution mère de bis acrylamide à 2% (à préparer avec gants et masque)

Bis acrylamide 2 g
Eau distillée 100 ml

Solution stock de SDS à 10% (à préparer ex temporairement)

Sodium dodécyl sulfate 10 g
Eau distillée 100 ml

Solution d'APS (ammonium persulfate) à 1%(à préparer ex temporairement)

APS	0.1 g
Eau distillée	10 ml
Tampon tris HCL pH 8.8 (à préparer sous la hotte, avec gants et masque)	
Tris (hydroxyméthyl aminomenthan)	60.75 g
Eau distillée	qsp 400 ml
Ajuster à pH 8.8 avec HCL fumant	8 à 10 ml
Eau distillée	qsp 500 ml
Tampon tris HCL pH 8 (à préparer sous la hotte, avec gants et masque)	
Tris (hydroxyméthyl aminomenthan)	6.057 g
Ajuster à pH 8.8 avec HCL fumant	3 ml
Eau distillée	qsp 50 ml

Tampon tris HCL pH 6.8 (à préparer sous la hotte, avec gants et masque)

Tris (hydroxyméthyl aminomenthan)	30.285 g
Eau distillée	qsp 200 ml
Ajuster à pH 6.8 avec HCL fumant	19.5 ml
Eau distillée	qsp 250 ml
Tampon d'électrophorèse	
Glycine	70.55 g
Tris (hydroxyméthyl aminomethan)	15 g
Eau distillée	qsp 5000 ml

ANNEXE. 4 Solution mère de bleu de Coomassie R250

Bleu de Coomassie R250	10 g
Ethanol 95°	qsp 1000 ml
Solution de coloration (pour deux gels)	
Acide trichoroacétique (TCA) 60%	100 ml
Solution mère de bleu de Coomassie R250	25 ml
Eau distillée	qsp 500 ml

ANNEXE. 5 ANOVA Analyse de la variance des parametres

Variables	Effet traitement					Effet variété					Effet interaction variété* effet hydrique				
	Ddl	SC	MC	F	p	Ddl	SC	MC	F	p	Ddl	SC	MC	F	p
Epiaison	1	96.7	96.7	68.25	0,000***	5	296.9	59.4	41.92	0,000***	5	93.1	18.6	13.15	0,000***
Maturité	1	90.25	90.25	147.68		5	451.58	90.32	147.79		5	2.25	0.45	0.74	ns

ANNEXE. 6 Comparaison statistique (test t de Student) des différents paramètres morphologiques obtenus chez les variétés étudiées des deux traitements (irrigué et non irrigué)

variétés	variables	Trait	Paramètres statistiques					Tobs	p
			\bar{x}	Variance	Ecart-type	$\bar{x}_{\min} - \bar{x}_{\max}$			
Rahouia	la longueur de l'épi	S I	7,00	0,25	0,50	6,5- 7.5	1,77	0,07ns	
		S II	5,83	0,58	0,76	5- 6.5			
Guemgoum		S I	7,17	0,58	0,76	6,5 - 8	1,99	0,046*	
		R'kham	S II	4,83	0,33	0,58	4,5- 5.5		
Djenah		S I	7,50	0,25	0,50	7.0- 8.0	1,99	0,046*	
Khotifa		S II	5,83	0,08	0,29	5,5-6			
Vitron		S I	6,83	0,08	0,29	6,5-7,0	1,18	0,239ns	
		S II	6,33	0,33	0,58	6.0- 7.0			
Béliouni	S I	5,00	0,25	0,50	4,5-5.5	0,67	0,5ns		
	S II	4,50	1,00	1,00	3,5- 5.5				
Gta dur	S I	7,17	0,08	0,29	7.0- 7.5	2,12	0,034*		
	S II	6,50	0,00	0,00	6,5- 6.5				
Rahouia	la longueur du col de l'épi	S I	18,877	11,139	3,338	15,12-21,5	0,05	0,05*	
		S II	13,31	1,062	1,031	12,12-13,9			
Guemgoum		S I	12,25	0,438	0,661	11,75-13	0,046	0,05*	
		R'kham	S II	6,247	0,296	0,544	5,62-6.6		
Djenah		S I	16,34	2,763	1,662	15 -18.2	0,05	0,05*	
Khotifa		S II	13,373	0,015	0,121	13,28-13.51			
Vitron		S I	10,107	0,144	0,379	9,67-10.35	0,05	0,05*	
		S II	3,66	0,021	0,144	3,5-3.78			
Béliouni	S I	19,94	0,028	0,168	19,75-20.07	0,05	0,05*		
	S II	5,937	0,605	0,778	5,2-6.75				
Gta dur	S I	10,823	0,359	0,599	10,14-11.26	0,046	0,05*		
	S II	4,357	0,023	0,15	4,2-4.5				
Rahouia	longueur des barbes	S I	11,067	0,363	0,603	10,5-11.7	0,05	0,05*	
		S II	7,667	0,192	0,438	7,17-8.00			
Guemgoum		S I	10,883	0,565	0,751	10,16-11.66	0,046	0,046*	
		R'kham	S II	8,667	0,333	0,577	8,00-9.00		
Djenah		S I	10	0,25	0,5	9,5-10.50	0,05	0,05*	
Khotifa		S II	7,333	0,357	0,598	6,67-7.83			
Vitron		S I	8,507	0,1	0,316	8,15-8.75	0,05	0,05*	
		S II	7,617	0,251	0,501	7,05-8.00			
Béliouni	S I	9,933	0,563	0,751	9,5- 10.80	0,05	0,05*		
	S II	7,643	0,227	0,476	7,15-8.10				
Gta dur	S I	8,41	0,207	0,455	8.00- 8.90	0,046	0,046*		
	S II	7,223	0,15	0,387	7- 7.67				

ANNEXE. 7 Classement et regroupements des groupes significativement différents chez les variétés étudiées et entre les deux sites (irrigué et non irrigué).pour la surface foliaire

Traitement	Variétés	Moyenne (cm²)	Regroupements
Sans	Djenah Khotaiifa	9.3	A
	GuemGoumR'kham	9.78	A
	Rahouia	10.16	A
irrigation	Beliouni	11.29	B
	Vitron	11.34	B
Irrigué	Djenah Khotaiifa	11.78	B
	Rahouia	12.02	B
	GuemGoumR'kham	12.87	C
	Beliouni	13.18	D
	Vitron	14.73	E
	Gta dur	16.56	F

ANNEXE. 8 matrice de corrélation des variables chez les variétés étudiées

Variables	haut	epi	lce	lb	Sf	Talles/m2	Plant/m2	epi/m2	Ng/epi	pmg	rdtg	bioma	ir	tre	rwl	po	proline	sucres	proteines
haut	1.00	0.08	0.77	0.66	0.31	-0.22	0.40	-0.10	-0.56	-0.07	-0.25	-0.33	0.05	0.09	0.38	0.52	-0.49	-0.66	-0.61
l epi	0.08	1.00	0.22	0.39	0.49	-0.16	0.29	0.20	0.31	0.51	0.24	0.29	0.05	0.11	0.54	0.63	-0.71	-0.54	-0.30
lce	0.77	0.22	1.00	0.68	0.06	0.10	0.71	0.27	-0.25	0.19	0.08	-0.01	0.24	0.31	0.64	0.71	-0.71	-0.59	-0.56
lb	0.66	0.39	0.68	1.00	0.20	-0.40	0.70	0.04	-0.23	0.39	0.00	0.12	0.17	0.29	0.83	0.84	-0.63	-0.88	-0.73
Sf	-0.31	0.49	0.06	0.20	1.00	0.40	0.48	0.76	0.84	0.91	0.90	0.94	0.47	0.52	0.32	0.25	-0.39	-0.18	0.00
Talles/m2	-0.22	0.16	0.10	0.40	0.40	1.00	0.23	0.76	0.56	0.31	0.67	0.40	0.84	0.41	0.21	0.32	0.06	0.39	0.37
Plant/m2	0.40	0.29	0.71	0.70	0.48	0.23	1.00	0.49	0.10	0.50	0.41	0.34	0.34	0.62	0.73	0.63	-0.66	-0.48	-0.38
epi/m2	-0.10	0.20	0.27	0.04	0.76	0.76	0.49	1.00	0.66	0.80	0.90	0.71	0.86	0.62	0.10	0.11	-0.30	-0.05	0.01
Ng/epi	-0.56	0.31	0.25	0.23	0.84	0.56	0.10	0.66	1.00	0.72	0.83	0.81	0.54	0.42	0.07	0.22	0.00	0.21	0.35
pmg	-0.07	0.51	0.19	0.39	0.91	0.31	0.50	0.80	0.72	1.00	0.81	0.81	0.53	0.60	0.35	0.33	-0.37	-0.37	-0.19
rdtg	-0.25	0.24	0.08	0.00	0.90	0.67	0.41	0.90	0.83	0.81	1.00	0.91	0.74	0.51	0.09	0.05	-0.28	-0.03	0.06
bioma	-0.33	0.29	0.01	0.12	0.94	0.40	0.34	0.71	0.81	0.81	0.91	1.00	0.41	0.42	0.20	0.14	-0.26	-0.14	0.00
ir	0.05	0.05	0.24	0.17	0.47	0.84	0.34	0.86	0.54	0.53	0.74	0.41	1.00	0.45	0.17	0.14	-0.16	0.12	0.13
tre	-0.09	0.11	0.31	0.29	0.52	0.41	0.62	0.62	0.42	0.60	0.51	0.42	0.45	1.00	0.26	0.07	-0.02	0.01	0.01
rwl	-0.38	0.54	0.64	0.83	0.32	0.21	-0.73	-0.10	0.07	-0.35	-0.09	-0.20	0.17	0.26	1.00	0.89	0.69	0.79	0.71
po	-0.52	0.63	0.71	0.84	0.25	0.32	-0.63	-0.11	0.22	-0.33	-0.05	-0.14	0.14	0.07	0.89	1.00	0.86	0.87	0.77
proline	-0.49	0.71	0.71	0.63	0.39	0.06	-0.66	-0.30	0.00	-0.37	-0.28	-0.26	0.16	0.02	0.69	0.86	1.00	0.67	0.50
sucres	-0.66	0.54	0.59	0.88	0.18	0.39	-0.48	-0.05	0.21	-0.37	-0.03	-0.14	0.12	0.01	0.79	0.87	0.67	1.00	0.90
proteines	-0.61	0.30	0.56	0.73	0.00	0.37	-0.38	0.01	0.35	-0.19	0.06	0.00	0.13	0.01	0.71	0.77	0.50	0.90	1.00

ANNEXE. 9 Résultats de l'ACP des quatre premiers axes, obtenus pour l'ensemble des caractéristiques mesurées sur les six variétés de blé dur étudiées.

Parametres statistiques	Axe1	Axe 2	Axe 3	Axe 4
Valeur propre	7.616	6.202	1.993	1.137
Pourcentage expliqué (%)	40.085	32.641	10.488	5.983
Pourcentage cumulé(%)	40.085	72.726	83.214	89.197

ANNEXE. 10 Etude des variables avec les quatre premières composantes principales.

Variables	Composantes principales								Σ Corr ² %axe (1+2)
	Axe1		Axe2		Axe3		Axe4		
	Corr	Corr ² %	Corr	Corr ² %	Corr	Corr ² %	Corr	Corr ² %	
Haut	0.324	10.50	-0.685	46.97	-0.485	23.56	-0.203	04.12	57.47
l epi	0.595	35.50	-0.145	02.10	0.544	29.64	-0.417	17.36	37.60
Lce	0.651	42.40	-0.445	19.77	-0.526	27.64	-0.095	00.89	62.17
lb	0.703	49.40	-0.607	36.85	0.004	00.00	0.290	08.39	86.25
Sf	0.741	55.00	0.567	32.18	0.331	10.96	0.071	00.51	87.18
Talles/m2	0.216	04.66	0.744	55.39	-0.494	24.41	-0.212	04.50	60.05
Plant/m2	0.820	67.00	-0.110	01.22	-0.316	09.97	0.225	05.07	68.22
Nbrepi/m2	0.674	45.41	0.641	41.04	-0.250	06.26	-0.106	01.13	86.45
Ng/epi	0.376	14.14	0.830	68.94	0.304	09.24	-0.015	00.02	83.08
Pmg	0.811	65.69	0.427	18.25	0.199	03.95	0.105	01.09	83.94
Rdtg	0.650	42.29	0.718	51.60	0.024	00.06	-0.079	00.61	93.89
Bioma	0.632	39.93	0.595	35.35	0.322	10.35	0.094	00.88	75.28
Ir	0.426	18.12	0.628	39.40	-0.499	24.89	-0.339	11.50	57.52
Tre	0.512	26.25	0.392	15.35	-0.345	11.92	0.620	38.40	41.60
Rwl	-0.742	55.02	0.498	24.76	-0.137	01.88	-0.200	04.00	79.78
Po	-0.744	55.35	0.606	36.78	-0.138	01.90	0.065	00.42	92.13
Proline	-0.774	59.88	0.352	12.39	-0.049	00.24	0.380	14.46	72.27
Sucres	-0.684	46.82	0.628	39.41	-0.155	02.39	0.044	00.19	86.23
Prots	-0.529	27.99	0.651	42.41	-0.015	00.02	-0.027	00.07	70.40

ANNEXE. 11 Présentation des bandes révélées chez les grains des cultivars de blé dur Étudiés.

N° de bande	PM (K Da)	Genotypes											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	325.00	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
2	230.00	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
3	203.90	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	193.58	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
5	183.64	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
6	178.91	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
7	174.39	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
8	174.35	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
9	168.40	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	163.63	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
11	160.47	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	148.04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
13	146.57	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	146.00	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
15	145.08	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
16	145.06	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
17	143.42	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	142.13	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
19	139.24	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	128.41	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
21	127.15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
22	125.91	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
23	124.70	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	91.14	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25	88.35	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
26	87.95	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
27	85.76	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
28	84.70	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
29	69.50	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
30	67.53	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
31	65.21	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32	56.44	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Irrigué et non irrigué : 1 et 2: Rahouia; 3et 4: Beliouni; 5et 6 : Guemguoum R'khem, ,
7et 8: Vitron, 9 et 10: Djenah Khetifa, 11 et 12: GTA dur; + : présence des bandes et - : absence des bandes.

ANNEXE. 12 Valeurs propres et représentation de la variation par les premières composantes principales (ACP) définies par six variables de 40 variétés de blé dur .

Composante principale	CP1	CP2
Valeur propre	3,21	1,22
% d'inertie	53,54	20,35
<hr/>		
Variable		
E	0,25	0,22
Em2	-0,49	-0,26
gE	0,52	0,14
PMG	0,42	-0,51
Rdt	0,41	-0,52
haut	0,3	0,58

Production Scientifique

Water Use Efficiency and Flag Leaf Photosynthetic in Response to Water Deficit of Durum Wheat (*Triticum durum* Desf)

R. Bousba, N. Ykhlef and A. Djekoun

Laboratory of Genetics, Biochemistry and Plant Biotechnology, Department of Biology and Ecology,
Faculty of Natural Sciences and Life, University Mentouri Constantine,
Route Ain El Bey, Constantine-25000, Algeria

Abstract: The knowledge of the physiological characters implied in the processes of the adaptation plants to the abiotic constraints constitutes a decisive stage of fight against the drought. Six varieties of durum wheat (*Triticum durum*) were used in this study: four local varieties characterized by a low potential production (Djenah khetaifa, Beliouni, Rahouia and Guem goum rkham) and two introduced varieties with a high production potential (Vitron and Gta dur). Pot experiments were carried out in a greenhouse. The plants were subjected to different rates of water supply (100, 80, 60, 40 and 12% of field capacity). At the anthesis stage, some physiological parameters such as net photosynthesis, transpiration, water use efficiency, stomatal resistance and the rate of chlorophyll were recorded on the flag leaf. The results revealed highly significant varietal differences to the whole of parameters measured. The results showed that water stress, in all the varieties decreased the chlorophyll rate, while increased the stomatal resistance, which involves a fall in the photosynthetic activity and therefore a decrease in the production of the dry mass. Yet, under the same conditions of water stress, the introduced varieties have a good capacity of adaptation compared with the local varieties. Nonetheless, variety Beliouni is confirmed as the most productive in parallel with the other local varieties. In the conditions of this study, positive correlations were reported between the net photosynthesis and the production of the dry mass.

Key words: *Triticum durum* Desf • Water stress • Net photosynthesis • WUE • Stomatal resistance

INTRODUCTION

Drought is one of the main factors which limit productivity all over the world [1]. In such conditions, it sounds more essential to select varieties with a fair yield in dryness conditions rather than searching for high yield potential varieties in adequate water supply conditions. But in order to limit the variations of the production due to environmental variability, many research studies were carried out to identify the morphological [2], physiological [3], biochemical [4] and genetic characters [5] due to the mechanisms of the adaptation of species to the lack of the water and can serve as selection criteria to assist in and accelerate such breeding programmes [6].

In the mediterranean basin, which is considered as one of the major centres of plant diversity in the world, the rare precipitation is in part or totally the factor that

limits production. Actually, the region is characterised by a dry climate, hot in summer and cold in winter [7]. Durum wheat is the most widely grown cereal species in this region and it holds about 45% of durum wheat cultures in the world [8]. These crops are widely cultivated under rainfall conditions [9], with variable intermittent moisture stress and terminal moisture stress of various lengths [10]. In Algeria, cereals hold 60% of the cultivated lands; unfortunately, the production is still very low. The adverse climatic variations, bearing particularly severe and steady water stress often along with extreme heat by the end of the season, result in a high variability of the production of these crops [11]. There are a large number of local varieties of wheat in Algeria. They have been selected since long before 1961 until date [12]; They are rather poorly exploited and are quite neglected because of their low potential of productivity. However,

we are now pressed to consider actions to be taken as well as research programmes to preserve and promote these cultivars for the conservation of this genetic heritage. It is necessary to also have some insight into the physiological mechanisms underlying these crop responses [13].

Besides, it is admitted that losses of water resulting from the atmospheric challenges are regulated by the stomata [14] in the leaves. The fall in productivity of the plants in unfavourable environmental conditions is caused by the fact that they downsize their foliar area when they reduce their growth; this results in a decrease of the photosynthetic capacity of the whole plant [15].

The purpose of this study is to quantify the effects of water stress on some growth and physiological characters. The aim is to establish simple criteria that will serve to identify the physiological mechanisms that describe tolerance to drought of the Durum wheat varieties for a better management of the improvement programmes and to optimally exploit natural resources.

MATERIALS AND METHODS

Plant Material and Growing Conditions: Six varieties of Durum wheat (*Triticum durum*, Desf.) Local and introduced released by the Technical Institute Crop El Khroub Constantine 'ITGC' are the subject of this present study (Table 1). These cultivars are characterized by contrasting agricultural productivity. Ten seeds are germinating in Petri dishes. After germination, seedlings are transplanted into plastic pots with mixture of (Clay Soil / sand 3:1). The pots are arranged randomly (total randomization) in green house with an average temperature of $36.75 \pm 10^\circ\text{C}$ and relative humidity of $47.55 \pm 8\%$. After plant emergence, pots were irrigated at field capacity and weighed every day, until flowering stage. At this stage five different water regimes were imposed. They consisted of 100 (control), 80, 60, 40 and 12% of field capacity (F. C), each treatment was replicated three times.

Measurements

Measurement of Photosynthesis (Pn): Transpiration (T) and stomatal resistance (Rs) are done with a portable photosynthesis measurement system (LCA4, ADC Hoddesdon, England). The measurements are made at flowering stage on the flag leaf fully attached with three replications for each measure. Net photosynthesis is expressed by $\mu\text{molCO}_2 \cdot \text{M}^{-2}\text{s}^{-1}$, transpiration by $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-2}$ while stomatal resistance RS is estimated by ($\text{m}^2 \cdot \text{s} \cdot \text{mol}^{-1}$).

Table 1: Origin of studied genotypes

Varieties	Code	Origin
Beliouni	BEL	Algeria
Djenah Khetifa	D. K	ITGC Algeria
Guenguoum R'khem	G. G. R	ITGC Tiaret
GTA dur	GTA	CIMMYT (Mexique)
Hoggar Ex : Vitron	VIT	Introduite Spain Sélection : ITGC / TIARET
Rahouia	RAH	ITGC / TIARET 1980

Measurement of Chlorophyll (Unit SPAD): The rate of chlorophyll in the leaves is determined by using a chlorophyll meter, (model MINOLTA type SPAD). Before any measure, the device must be set (number of signal tower) and size (N = 0). In this protocol the rate of chlorophyll is estimated per unit SPAD.

The Dry Mass g (MS): Ten plants are valued at random, cleaned and placed in an oven for dehydration at 80°C for 48 h. The plants are taken separately and weighing of each plant is noted. The average weighed of ten plants is chosen.

Water Use Efficiency (WUE) ($\mu\text{molCO}_2/\text{mmolH}_2\text{O} \cdot \text{s}$): The efficiency of water use is estimated at the sheet. Defined as the ratio of Net photosynthesis to Transpiration (PN / T) of net CO_2 assimilation (PN) per unit of water transpired (T) per sheet [16].

Statistical Analysis: The interpretation of results is achieved by the program Statistical 7. Comparing average results is tested by an analysis of the ANOVA. The separation of homogeneous groups based on the smallest significant amplitude (PPAS) observed among several medium is made by test-NEWMAN KEUILS the significance at the level of 5% and 1%. Similarly, Dagnélie [17, 18] determination of correlation coefficients and linear regression was performed by XLSTAT 2009 program, to identify the relationships among the variables.

RESULTS AND DISCUSSION

The results show that net photosynthesis and transpiration fall significantly ($p < 0.01$) with the intensity of water stress in all varieties studied (Table. 2). The values obtained in net photosynthesis differ from one variety to another (Fig. 1). For each water regime there were significant differences across genotypes for almost all traits. At the most stressed water treatment (12% F. C) recorded the lowest values of Net photosynthesis. However the introduced genotype GTA dur showed

Table 2: Variance Analysis and mean values of plant hydrouss parameters (net photosynthesis (Pn) ($\mu\text{mol}_{\text{CO}_2} \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-2}$) rate, Transpiration rate (T) $\text{mmolH}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ and dry mass production (MS) (g)

Source of variation	PN					T				MS			
	d.f	SS	MS	Fcal	P	SS	MS	Fcal	P	SS	MS	Fcal	P
Genotypes	5	10400.32	2080.06	432.06	0.000***	316485	66582.24	1569.07*	0	618.65	119.42	321.94*	0
Treatments	4	4974.37	1243.59	258.29	0.000***	381787	98332.41	2317.29*	0	1008.67	244.89	660.17*	0
Genotypes x treatments	20	1117.33	55.87	11.6	0.000***	105608	4813.95	113.44*	0	110.1	4.82	12.98**	0.012
Error	60	288.88	4.81				42.43			19.29			
Total	89						9270.7				19.05		

*, **, *** significant at 5%, 1% et 0.1% respectively

the highest value of Net assimilation ($27.78 \mu\text{molCO}_2 \text{ M}^{-2} \text{ S}^{-2}$), compared to the local variety (Djenah Khetaifa ($10.90 \mu\text{molCO}_2 \text{ M}^{-2} \text{ S}^{-2}$), Which showed the lowest rate of the flag leaf photosynthesis and the most affected by this level of water supply. At the same level of severe stress the interaction was highly significant between genotype x water regime ($p < 0.001$) with regard to this parameter (Table 2).

The decline in photosynthetic activity among plant under several stressed was cited by other studies as one of the major causes of reduced growth and productivity [19, 20]. This decrease can be influenced by stomatal effects that result in low diffusion and CO_2 fixation [21] and/or non-stomatal effects. They are distinguished by a slightly increased effectiveness of primary activities of photosynthesis, limiting operating PSII photochemical and / or alteration of the photosynthetic apparatus [22]. This suggests that water stress can have an inhibiting effect on various physiological processes involved in the plant fonctionment [23]. Therefore, diminution can lead to a closure of stomata limiting the internal CO_2 concentration [24], which is expressed by a decline in photosynthetic activity.

In this study, stomatal resistance developed by the six varieties studied is also significantly affected by the water deficit ($p < 0.05$). The differences was observed dice the installation of water stress and stomatal resistance increases as the stress becomes more severe (12% F. C). Beliouni was the genotype showing the highest value ($250 \text{ m}^2 \text{ s. mol}^{-1}$) compared to other cultivars, followed by the introduced variety GTA dur, enregistreng an smaller increase of this trait (Fig. 2).

In this concern, Sarda *et al.* [25] reported that Durum wheat under drought condition, seems to be favor the first strategy is to enable the closure of stomata and limit the intensity of transpiration by plants. The maintaining of satisfactory photosynthetic activity by the local variety (Beliouni) against the applied water stress in our study,

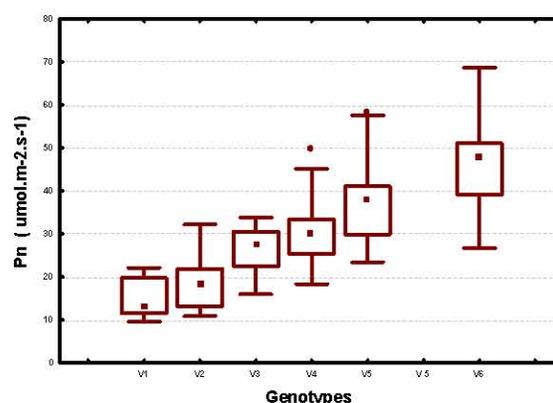


Fig. 1: Variation of net photosynthesis (Pn) ($\mu\text{mol.m}^{-2} \text{ S}^{-2}$) during water deficit levels (100, 80, 60, 40, et 12% F.C) of six durum wheat genotypes (V1: Djenah Khetaifa, V2: Guemguoum R'khem, V3: Rahouia, V4: Beliouni, V5: Vitron and V6: GTA dur)

despite the decrease in internal CO_2 concentration due to the closure of stomata, can result by the establishment of the non stomatic mechanisms as a means of adaptation to limit the water loss [22, 26, 27]. In addition, for all different varieties studied measuring transpiration presents a significant genotypic variability, the differences are highly significant ($p < 0.01$). The values recorded at the well watered condition (100% F. C), vary from 12.07 to 42.03 $\text{mmolH}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ at the local variety Djenah Khetaifa and variety introduced GTA dur, respectively. Under different levels of water stress applied, tested genotypes showed significant decreases compared with control plants (100% F. C) (Table. 3). Also, under progressive drought we detected an important decrease of this trait (for about 50%) among cultivars Djenah Khetaifa and Beliouni. These results are consistent with findings of Zhao Hui *et al.* [28].

Table 3: Effect of water stress on Transpiration rate (T) ($\text{mmolH}_2\text{Om}^{-2}\text{s}^{-1}$) of six Durum wheat genotypes

Parameter Treatments	T $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$				
	T	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄
Genotypes					
DK	12, 07±0, 71c	11, 80±4, 7c	10, 65±0, 32 c	6, 69±7, 4a	5, 46±1, 50 a
GGR	17, 16±0, 59 cd	16, 13±4, 04cd	14, 48±1, 34cd	8, 04±1, 16 b	6, 49±0, 82 a
RAH	20, 13±1, 02 e	19, 64±8, 54 cd	20, 47±1, 73 e	12, 14±1, 72 c	7, 79±4, 45b
BEL	30, 43±1, 7f	28, 55±2, 15 e	18, 05±5, 87cd	10, 84±1, 62 c	9, 86±1, 11b
VIT	35, 39±10, 25g	30, 62±1, 00 f	29, 26±4, 66 e	12, 58±2, 07c	10, 92±1, 24c
GTA	42, 03±9, 98h	30, 84±4, 90g	28, 99±1, 04e	20, 64±1, 5e	12, 13±1, 69c

Water regime: T: Control, S1 80%, S2 60%, S3 40% and S4 12% of field Capacity

a, b, c d, Homogenes Groups obtained by Newman keuls test at 5%

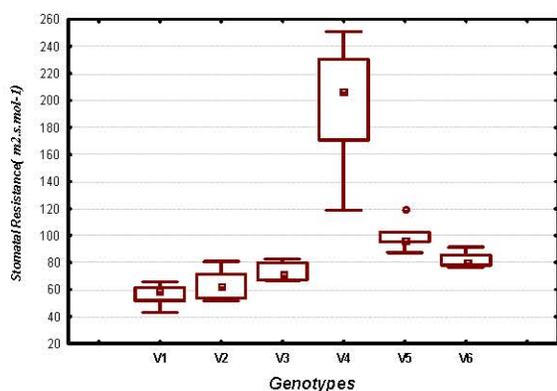


Fig. 2: Variation of Stomatal Resistance (Rs) ($\text{m}^2.\text{s}.\text{mol}^{-1}$) of six Durum wheat genotypes during water deficit levels (100, 80, 60, 40 and 12% F.C).

(V1: Djenah Khetaifa, V2: Guemguoum R'khem, V3: Rahouia, V4: Belioumi, V5: Vitron and V6: GTAdur)

Generally, the reduction of the transpiration reflects the effect of the drought that can be translated, according to the adaptive strategy of the species or the variety, by the morphological modifications to increase the absorption of water and / or to decrease the transpiration. These modifications affect the aerial parts as the underground parts of the plant [29].

The variation of the rate of chlorophyll, under different levels of water stress provides information about the behavior of varieties towards the water efficiency. The chlorophyll rate of the local varieties Djenah Khetaifa and Guemgoum R'khem dropped under severe water regime (12%), respectively, in contrast, the introduced varieties Vitron and GTA dur, were characterized by the highest rates ranging from 17.07 to 16.88 (U. SPAD), respectively (Fig. 3). These results

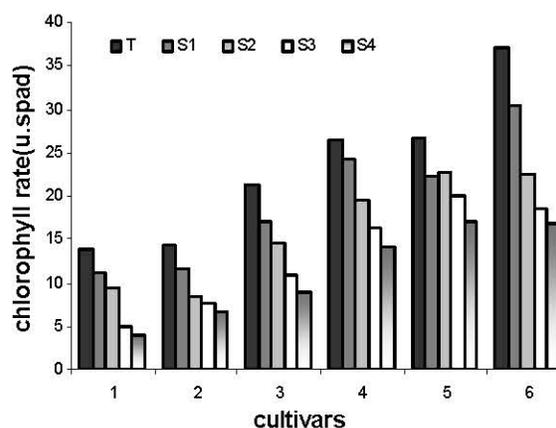


Fig. 3: Variation of Stomatal Resistance (Rs) ($\text{m}^2.\text{s}.\text{mol}^{-1}$) of six Durum wheat genotypes during water deficit levels (80, 60, 40, 20 and 12% F.C).

(V1: Djenah Khetaifa, V2: Guemguoum R'khem, V3: Rahouia, V4: Belioumi, V5: Vitron and V6: GTAdur)

confirm the observations of GU *et al.* [30], showed that the lack of water leads to a drop of chlorophyll in the leaves. The relationship between this parameter and the Net photosynthesis is very high ($r = 0.92$) regardless of the water regime (Fig. 4).

In well condition of water supply, dry mass content is significantly higher ($p < 0.01$) compared to drought conditions (Table 2), it also indicated that the effects of interaction (genotypes x water regime), were highly significant, it means that the different varieties studied varied in their behavior against the drought [31]. Indeed the relationship between the values of *PN* and the dry mass shows that these two parameters are linearly related (Fig. 5) with significant differences ($p < 0.05$) at right slope

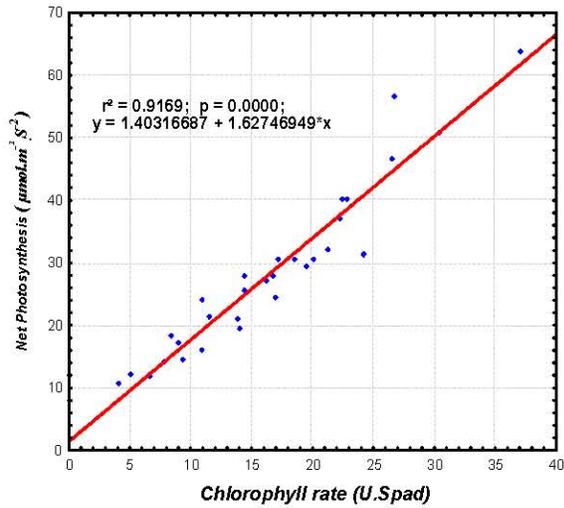


Fig. 4: Relationship between Net photosynthesis (Pn) ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{S}^{-2}$) and Chlorophyll rate (U.Spad)

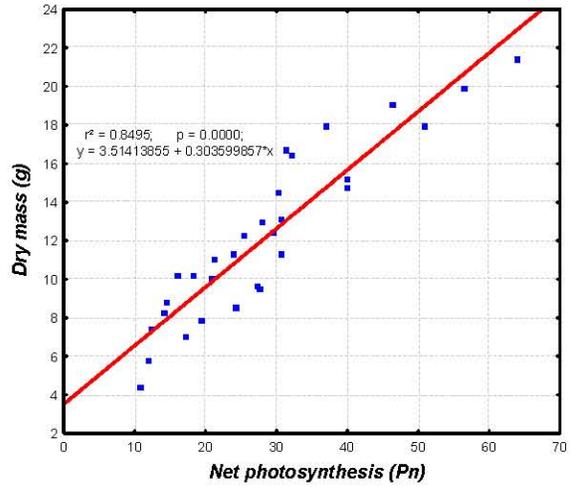


Fig. 5: Relationship between Dry mass (g) and Net photosynthesis (PN) ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{S}^{-2}$)

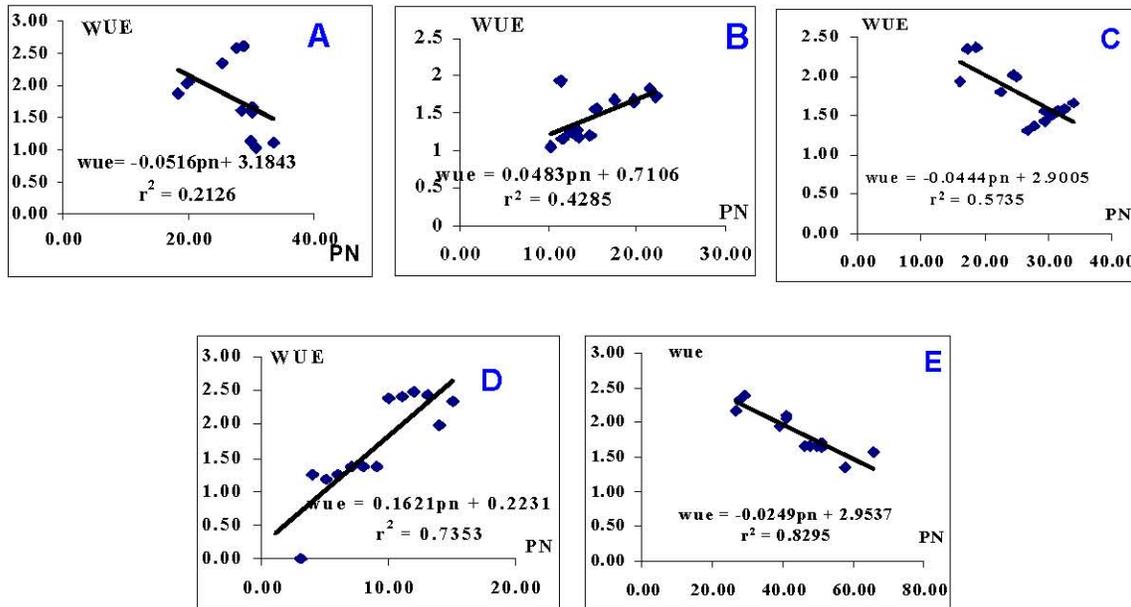


Fig. 6: Relationship between Water Use Efficiency WUE and Net photosynthesis PN ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{S}^{-2}$) of durum wheat genotypes

A : Vitron , B: Guemguoum R'khem, C : Beliouni , D: Rahouia E: GTA dur

of regression (Pearson). According to Newman Keuls test threshold 5% GTA dur variety ranks the first with the largest value of dry mass of about 19.32 g and the last was given by the variety Djenah Khetifa with 8.15 g. The two parameters are highly, significantly correlated (Pearson correlation between MS and PN is $r = 0.89$ with $p = 0.000$).

The water promotes the synthesis of plant mass, when stress becomes severe production of dry matter slowed [32]. The efficiency of the water use estimated by the report (PN / T), vary according to genotypes and evolve in a similar way according to applied water regimes. Indeed, under well watered conditions; control (100%), the studied varieties present values of this

parameter, that varied between 1.50 $\mu\text{mol CO}_2/\text{mmolH}_2\text{Os}$, recorded at the variety local Guemgoum R'khem and 1.75 $\mu\text{molCO}_2/\text{mmolH}_2\text{Os}$ at the variety Djenah Khetaifa. This variability is maintained at the time of the application of water stress and increase with the intensity of this last [33]. So, values recorded under severe stress in this survey (12 % F. C), spread of 1.75 $\mu\text{molCO}_2/\text{mmolH}_2\text{Os}$. At Guemgoum R'khem variety, 1.87 $\mu\text{molCO}_2/\text{mmolH}_2\text{Os}$ at Beliouni and 2.29 $\mu\text{molCO}_2/\text{mmolH}_2\text{Os}$ at variety GTA dur. According to Pearson test positive correlation is noted between the net photosynthesis and the water use efficiency ($r=0.55$) (Fig. 6), at the variety Beliouni and this correlation is more important and who reaches around 0.65, 0.75, 0.82 and 0.91, respectively at Djenah Khetaifa, Rahouia, Vitron and GTA dur varieties (Fig. 6A, B, C, D and E). These results are in agreement with those obtained by Kochler [34].

It is lucid that parameters bound to the efficiency of the use of water and tolerance to the drought have a determining agronomic significance for the production of the durum wheat. These parameters are controlled by several physiological mechanisms, that integrate at the foliar level stomatics effects and non stomatics [35] and at the plant level, capacities of translocation of photosynthetic assimilates toward the ear [36, 37]. The term efficacy of water used constitutes a main factor of tolerance therefore to the water supply. In condition of 12% F. C a variability genotypic of the efficiency of water used was observed within the studied genotypes [22, 38]. This genotypic variability expresses the potential of production of the dry mass according to the available water. It depends on the level of imbibition of the plant, which results of the balance between the absorption and the transpiration [41].

CONCLUSION

The results obtained of this study, shows that drought tolerance could be a complex trait involving many dynamic interactions and allowed us to establish three groups of varieties that seem to have contrasted performances with regard to their adaptation to drought. The first group consists of varieties with high potential of production of dry mass in dry conditions, these are varieties GTA dur and Vitron. The second group is made up of varieties with intermediate performance concerning the photosynthesis rate and the production of dry mass and is also characterized by a higher stomatal resistance in comparison with two other groups; variety Beliouni is typical of this group. It has a better tolerance to water stress [40] and records a good production of dry

mass despite the considerable decrease of water consumption. The last group is characterized by a low production of dry mass and corresponds to varieties Djenah Khetaifa and Rahouia.

REFERENCES

1. Eric, S. Ober, Mich Le Bloa, Chris J.A. Clark andy Royal, Keith W. Jaggard and John D. Pidgeon, 2004. Evaluation of physiological traits as indirect selection criteria for drought tolerance in sugar beet. *J. Field Crops Res.*, 91: 231-249.
2. Sack, L., P.J. Grubb and T. Marañón, 2003. The functional morphology of juvenile plants tolerant of strong summer drought in shaded forest under stories in southern Spain. *Plant Ecol.*, 168: 139-163.
3. Terwilliger, V.J., K. Kitajimi, D.J.S. Le Roux-Swarthout, Mulkey and S.J. Wright, 2001. Intrinsic water use efficiency and heterotrophic investment in tropical leaf growth of two Neotropical pioneer tree species as estimated from $\delta^{13}\text{C}$ values. *J. New Phytol.*, 152: 267- 281.
4. Bousba, R., 2006. Effect of an abiotic constraint (water stress) on the biochemical components of *Vicia faba* L seed. In the proceedings of the 2006, International workshop on Diversity of *Fabaceae* foragers and their sympionts proceeding, pp: 239-242.
5. Faical Brini, Moez hanin, Victoria lumbreras, Sami irar, Montserrat pagès and Khaled masmoudi, 2007. Functional characterization of DHN-5, a dehydrin showing a differential phosphorylation pattern in two Tunisian durum wheat (*Triticum durum* Desf.) varieties with marked differences in salt and drought tolerance. *J. Plant Sci.*, 172: 20-28.
6. Ihsan Ullah, Mehboob-ur-Rahman, Muhammad Ashraf and Yusuf Zafar, 2008. Genotypic variation for drought tolerance in cotton. *Flora*, 203: 105-115.
7. Nachit, M.M. and Ketatah, 1996. Selection of morphophysiological traits for multiples abiotic stress resistance in durum wheat. in physiology breeding of winter cereals for stressed mediteranien environments. Montpellier eds. INRA Colloque, 55: 391-400.
8. Proceddu, E. and E. Srivastava, 1990. Drought resistance of wheat for light- textured soils in a mediterranean climate in drought tolerance in winter cereals, pp: 203- 216.
9. Ghasempour, H.R., A.A. Hojatjalali and A.R. Rangin, 2007. Physiological changes, praline, total protein, protein analysis and potassium of the sugar beet plants in response to Beet cyst Nematodes, *Heterodera schchtii*. *J. Int. Bot.*, pp: 1-6.

10. Paula, Cusi and Echaniz, 2009. Cereal Situation and Prospects in the World and the Mediterranean CIHEAM (International Center for Advanced Mediterranean Agronomic Studies) 58.
11. Hayek, T., M. Ben Salem and E. Zid, 2000. Mécanisme ou stratégie de résistance à la sécheresse: Cas du blé, de l'orge et du triticale. Ciheam, pp: 287- 289.
12. ITGC, 1995. The main varieties of grain grown in Algeria ITCG, Algeria.
13. Mitchell, R.A., V.J. Mitchell and D.W. Lawlor, 2001. Response of wheat canopy CO₂ and water gas exchange to soil water content under ambient and elevated CO₂. Glob. J. Change Biol., 7: 599-611.
14. Jackson, R.B., J.S. Sperry and T.E. Dawson, 2000. Root water uptake and transport: using physiological processes in global prediction, J. Trends Plant Sci., 5(11): 482-488.
15. Steduto, P., R. Albrizio, P. Glorio and G. Sorrentino, 2000. Gas exchange response and stomatal and non stomatal limitations to carbon assimilation of sunflower under salinity. Agric. Sci., 144(3): 243-255.
16. Sinclair, T.R., C.B. Tanner and J.M. Bennett, 1984. Water use efficiency in crop production. Biol. Sci., 34: 36-40.
17. Dagnelie, P., 1970. Theory and Statistical Methods: agronomic applications (vol. 2). Duculot, Gembloux, pp: 451.
18. Dagnelie, P., 2006. Theoretical and Applied Statistics Volume 2 Statistical Inference with one and two-dimension, pp: 281-283.
19. Djekoun, A. and N. Ykhlef, 1996. Water deficit, stomatal effects and non stomatal and photosynthetic activity in some genotypes of wheat Tetraploide 3 rd reunion of network SEWANA, of durum wheat IAV Hassan II of 6 December, 1996.
20. Wang, L.W., A.M. Showalter and I.A. Ungar, 1997. Effect of salinity on growth, ion content and cell wall in *Atriplex prostrata*. Am. J. Bot., 84: 1247-1255.
21. Koichi Miyashita, Shigemi Tanakamaru, Toshihiko Maitani and Kazuyoshi Kimura, 2005. Recovery responses of photosynthesis, transpiration and stomatal conductance in kidney bean following drought stress. Environ. Experimental Botany, 53: 205-214.
22. Ykhlef, N., A. Djekoun, M. Bensari and D. Vignes, 2000. Water use efficiency as physiological markers of resistance to drought in Durum wheat (*Triticum durum Desf*). J. Sci. Technol., 10: 87-92.
23. Ziska, L.H., J.R. Seemann and T.M. De jong, 1990. Salinity induced limitations on photosynthesis in *Prunus salicina*, a deciduous tree species. J. Plant Physiol., 93: 864-870.
24. Kyparassis, A., Y. Petropoulou and Y. Manetas, 1995. Summer survival of leaves in a soft leaved shrub under mediterranean field conditions: avoidance of photoinhibitory damage through decreased chlorophyll contents. J. Exp. Bot., 43: 1825-1831.
25. Sarda, X., G. Vansuyt, D. Touch, F. Casse delabard and T. Lamaze, 1992. The root signals of stomatal regulation. In drought tolerance of cereals in rural Mediterranean: genetic diversity and breeding. Seminar Montpellier, France. 15-17 December 1992.
26. Johnson, R.C., J. Fred and J.S. Charles, 1987. Leaf photosynthesis and conductance of selected *Triticum sp* at different water potentials. J. Plant Physiol., 83: 1014-1017.
27. Shao, H.B., Z.S. Liang, M.A. Shao and B.C. Wang, 2005. Changes of some physiological and biochemical indices for soil water deficits among ten wheat genotypes at seedling stage. Biointerfaces, 42(2): 107-113.
28. Zhao Hui, Z.B. Zhang, H.B. Shao, P. Xu and M.J. Foulkes, 2008. Genetic correlation and path analysis of transpiration efficiency for wheat flag leaves. J. Environ. Experimental Botany, 1839: 3-5.
29. Abadi, H., S. El Djaafari, J. Bort and J.L. Araus, 2003. Comparison of flag leaf and ear photosynthesis with biomass and grain yield of durum wheat under various water conditions. J. Agron., 24: 19-20.
30. Gu, Y., Z. Wang and Z. Yang, 2004. ROP/RAC GTPase: an old new master regulator for plant signaling, Curr. Opin. Plant Biol., 7: 527-536.
31. Xu, S.C., J.Y. Dai, X.Y. Shen, L.Z. Wang, Q. Cui and Y.L. Zhu, 1995. The effect of water stress on maize photosynthetic characters and yield. J. Acta Agron. Sin., 21: 356-363.
32. Zhang, Z.J. and L. Shil, 2003. Photosynthesis and growth responses of *Parthenocius quinquefolia* L. plant to soil water availability. J. Photosynthesis, 42(1): 87-92.
33. Zarei, L., 2006. Evaluation of physiological indicators of drought tolerance and adaptation in bread wheat. MSc Thesis, Razi University, Kermanshah, Iran.
34. Kochler, M., 2000. Analyse und modellierung der Anpassungsreaktionen von Blumenkohl (*Brassica oleracea* L. Botrytis) an eine limitierte Wasserversorgung. PhD. Thesis. Department of Horticulture, University of Hannover, Hannover.
35. Bjorn, M., A. Norma and R. Torres, 1992. effects of water stress on photosynthesis, its components and components limitations and on water use efficiency in wheat (*Triticum aestivum*. L). Plant Physiol., 100: 733-739.

36. Helliker and Martin, 1997. comparative water use efficiencies of three species of peperomia (*Piperaceae*) having different photosynthetic path way. *J. Plant Physiol.*, 150: 259-263.
37. Eunice A. Bacelar, Jos'e M. Moutinho-Pereira, Berta C. Gonc,alves, Helena F. Ferreira, Carlos M. Correia, 2007. Changes in growth, gas exchange, xylem hydraulic properties and water use efficiency of three olive cultivars under contrasting water availability regimes. In *J. Environ. Experimental Botany*, 60: 183-192.
38. Johnson, R.C., J. Fred and Charles J. Simon, 1995. Genetic variation in water use efficiency and its relation to photosynthesis and productivity in lentil germoplasm. *Crop Sci.*, 35: 457-463.
39. Sun, H.Y., C.M. Liu, X.Y. Zhang, Y.J. Shen and Y.Q. Zhang, 2006. Effects of irrigation on water balance, yield and water use efficiency of winter wheat in the north China plain. *Agric. Water Manage.*, 85: 211-218.
40. Bensalem and Dasilva, 1991. Varietal Polymorphism of drought resistance in cereals: wheat in case. improvement of plants for adaptation to arid environments, AUPELF- UREF ed., John Libbey Euro Text, Paris, pp: 25-34.

Identification des marqueurs biochimiques et physiologiques de la tolérance à la sécheresse chez le blé dur *Triticum durum* Desf

Bousba R., Djekoun A. et Ykhlef N

Laboratoire de génétique Biochimie et Biotechnologies Végétales, Faculté des Sciences,
Université Mentouri Constantine, Algérie. Email : bousba_rn@yahoo.fr

Résumé :

L'un des plus importants phénomènes rencontrés en Algérie, est la soumission de grandes étendues de terre à une sécheresse pouvant s'étaler sur plusieurs mois. Ce climat aride ou semi-aride a constitué un réel problème en agriculture.

Ce travail de recherche effectué sur six variétés de blé dur locales et introduites possédant des caractéristiques contrastées, vise l'étude de l'effet du stress hydrique sur les traits biochimiques et physiologiques, pour la tolérance à la sécheresse.

Ainsi, les résultats obtenus montrent que l'effet de la sécheresse a été significatif pour tous les caractères étudiés, la diminution de la TRE a induit une baisse du potentiel osmotique (Po) de toutes les variétés, qui a été ajusté par une accumulation des sucres solubles et de la proline. Cette accumulation des osmotocum était très importante, est très bien marquée chez les variétés stressées, pour les gluténines, on a observé qu'il y a une dissimilarité dans la masse molaire entre la majorité des HPM_n des variétés stressées et non stressées, cependant La réponse des différents paramètres exprime des comportements particuliers propres à chaque variété.

Mots clés : *Triticum durum* Desf, stress hydrique, adaptation, TRE, SDS page, gluténines, proline et potentiel osmotique

1. Introduction

Les céréales constituent une part importante des ressources alimentaires et échanges économiques. Sachant que, presque la totalité de l'alimentation mondiale est fournie par les aliments en grain, où 96% sont produits par les cultures céréalières (blé, orge, seigle, avoine, riz, maïs, sorgho, millet et triticale) (Talamali, 2000). Toutefois, leur production reste très dépendante des conditions climatiques, en particulier de la pluie.

Parmi ces céréales, la céréale de base est le blé dur qui représente 8% des superficies cultivées en blé dans le monde (Monneveux, 1997). Plus de 70% de cette superficie est en conditions méditerranéennes, conditions qui favorisent l'obtention d'un grain de qualité (Monneveux, 1997). Ce dernier et leurs dérivés constituent l'épine dorsale du système alimentaire Algérien et occupe une place importante dans l'économie du pays.

En effet, elle fournit plus de 60% de l'apport calorique et 75 à 80% de l'apport protéique de la ration alimentaire nationale (Talamali, 2000).

Alors que les besoins nationaux ne cessent d'augmenter à cause de l'accroissement démographique de la population, la production des céréales en Algérie demeure très insuffisante pour satisfaire la demande de ce produit de large consommation.

De ce fait, pour compenser ce manque, notre pays a procédé à l'importation ; qui était très importante puisqu'il a importé environ 65% du blé destiné à l'Afrique du nord (Bulletin bimensuel du 23 Juin 2000), et sa correspondait à une valeur de 1.9 Mt.

Plusieurs études ont montré que, lors d'un déficit hydrique, les plantes adoptent des stratégies d'adaptation qui diffèrent d'une espèce à une autre et qui font intervenir une large combinaison de facteurs morphologiques, physiologiques (Ykhlef et al, 2000. Zarei, 2006) et biochimiques (Bousba, 2003).

L'objectif de la présente étude est de tester des variétés de blé dur (locales et introduites) en rapport avec leurs capacités de résistance au manque d'eau par des approches physiologiques (l'accumulation des osmolytes compatibles : proline), l'évolution des paramètres du statut hydrique : le contenu relatif en eau et le potentiel osmotique, ainsi que la quantification des protéines de réserves (glutenines au niveau du grain de blé).

2. Matériels et méthodes

Matériel végétal

Six variétés de blé dur (*Triticum durum*. Desf.) locales et introduites fournies par l'institut technique des grandes cultures El khroub Constantine ITGC font l'objet de la présente étude (Tableau n°1). Ces cultivars se caractérisent par des capacités agronomiques de productivité contrastées

Tableau. 1 Origines des géotypes étudiés.

Variétés	Code	Origine
Beloumi	BEL	Algérie
Djenah Kbetaifa	D.K	ITGC Algérie
Guemguoum R'khem	G.G.R	ITGC Tiaret
GTA dur	GTA	CIMMYT (Mexique)
Hoggar Ex : Vitron	HOG	Introduite d'Espagne Sélection : ITGC / TIARET
Rahouia	RAH	ITGC / TIARET 1980

L'essai mis en place est conduit sous un dispositif en blocs complètement randomisés avec quatre répétitions, en deux parcelles expérimentales; composé de deux traitements : irrigué (I) et non irrigué (NI) (pluvial) ;

Mesures effectuées

Les mesures ont été effectuées au stade floraison sur la feuille étandard complètement attachée en raison de trois répétitions pour chaque mesure.

La teneur relative en eau (TRE)

La teneur relative en eau (TRE %) ou (RWC), a été mesurée à partir de la formule de (Clarck et Mc-Caig ,1982) :

Le potentiel osmotique (Po)

Les mesures ont été effectuées, sur des échantillons congelés, à l'aide d'un microvoltmètre à point de rosée (Wescoring), le mode de mesure est celui du point de rosée.

Dosage de la proline

La méthode utilisée pour doser la proline est celle de (Troll et Lindsley. 1955) modifiée par (Dreier et Goring. 1974), et ensuite par (Mouneveux et Nemmar .1983).

Electrophorèse des glutenines

L'extraction des glutenines a été effectuée selon la méthode de Singh et al. (1991); sur gel d'acrylamide en conditions dénaturantes ("*sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis*" ou *SDS-PAGE*)

Traitement statistique des données

L'interprétation des résultats obtenus est réalisée par le programme Statistica. 7. La comparaison de moyennes des valeurs enregistrées est testée par une analyse de l'ANOVA.

3. Résultats et discussion

L'accumulation de la proline est l'une des stratégies adaptatives fréquemment observée chez les plantes pour limiter les effets du stress hydrique. La teneur en proline dans l'essai pluvial passe de (98.04 µg/g MF) chez la variété Guem Go umR'kham à 48.78 µg/100mg MF chez la variété Rahouia, tandis que dans l'essai avec traitement d'irrigation celle-ci passe de (86.77 µg/g MF) chez GuemGoum R'kham à (15.11 µg/mgMF) chez la variété (Hogar). L'accumulation de cet osmoticum est plus importante dans l'essai pluvial avec une augmentation de 49.25% par rapport au traitement d'irrigation, A ce même niveau de stress sévère on note des effets d'interaction génotype X régime hydrique très hautement significative ($p < 0.001$) (Tableau. 2).

Additionnellement à l'augmentation des sucres solubles, le manque d'eau a stimulé une augmentation de la concentration de l'acide aminé proline, (Wattane et al, 2000). Cependant L'accumulation de cet osmoticum sous conditions déficitaires, a été rapportée par plusieurs chercheurs, sur différents types de plantes : par (Ghasempour et al, 2007) sur la canne à sucre, (Bousba, 2003) chez la fève, (Narayan et Misra, 1989) sur des variétés de blé dur, et (Zougli et al ,2000) sur les feuilles de céleri.

La teneur en proline, est généralement faible dans les limbes foliaires et peut atteindre des valeurs très élevées lorsque les plantes souffrent de la sécheresse jusqu'à 300 µg/g MF chez certains blés tendres et jusqu'à 500 µg/g MF chez certains blés durs (Monneveux et Nemmar, 1986).

Concernant le potentiel osmotique, Les résultats obtenus montrent l'existence d'une variation significative entre les variétés et entre les deux traitements (Tableau 02), cependant, dans l'essai irrigué, les valeurs maximales sont enregistrées chez les variétés : Djenah Khotifa et GTAdur avec une valeur de l'ordre de (-18.98) Bars; La valeur minimale est enregistrée chez la variété : belioumi avec (-19.69) Bars.

En effet dans l'essai pluvial, l'ensemble des variétés testées représente des valeurs plus ou moins basses par rapport à l'essai irrigué. Heller, (1989) montre qu'il y a une autre réponse forte que de nombreuses plantes apportent aux stress hydriques, consiste en une diminution du potentiel osmotique provoquée par l'accumulation de solutés. De plus, (Ramanjulu et Sudahre, 1997) ; montrent que la diminution du potentiel osmotique P_o est l'une des réponses prononcées au stress hydrique dans beaucoup de plantes, et que ce phénomène est lié à la synthèse et à l'accumulation de certains solutés non toxiques dissous dans le cytoplasme à faible poids moléculaire (sucres solubles, proline, glycine, polyamide et des ions).

La teneur relative en eau est un paramètre qui décrit la capacité de la plante à se maintenir hydratée en conditions déficitaires.

La TRE la plus élevée dans l'essai irrigué est obtenue par la variété belioumi 79.51% par contre, la variété Djenah Khotifa est caractérisée par une faible teneur en eau 71.53 %. En ce qui concerne le traitement pluvial, la variété belioumi 77.14% possède la plus forte TRE par rapport à l'ensemble des génotypes étudiés. L'analyse de la variance a révélé une différence hautement significative entre variétés, un effet stress hautement significatif et un effet interaction variété x stress non significatif (Tableau 2)

Selon (Jones et al. 1984), le maintien de valeur assez élevée de la teneur en eau relative, en condition de stress peut résulter de deux mécanismes d'adaptation : maintien d'une élasticité élevée des tissus, ou diminution de la pression osmotique. De plus, (Matin et al, 1989 ; Diazperez et al, 1995 et Ritchie et al, 1990), suggèrent que les génotypes qui arrivent à maintenir une TRE élevée malgré le stress sont des génotypes tolérants.

En effet de faible corrélation ($r = -0.41$) a été enregistré entre le potentiel osmotique P_o et la TRE% (Figure. 1), la relation liant les valeurs de la teneur en proline (µg/mg MF) et le potentiel osmotique ($r = 0.83$), montre que ces deux paramètres sont linéairement liés (Figure. 2) avec des différences fortes ($p < 0.05$) au niveau de la pente de droite de régression (pearson).

Dans le diagramme de sous unités des HPMs on remarque que les bandes des variétés stressées présentées dans le diagramme sont qualitativement les mêmes que les variétés témoin. Selon la figure.3, on observe qu'il y a une dissimilarité dans la masse molaire entre la majorité des HPMs des variétés stressées et non stressées la masse molaire des variétés stressées est supérieure à celles des non stressées comme c'est le cas de la variété Djenah khotifa. , farshadfar et al, 2008, ont montré que le manque d'eau induit une diminution des protéines solubles par rapport aux témoins, et des protéines insolubles au niveau du grain mature du blé (Sandeep et al, 2008).

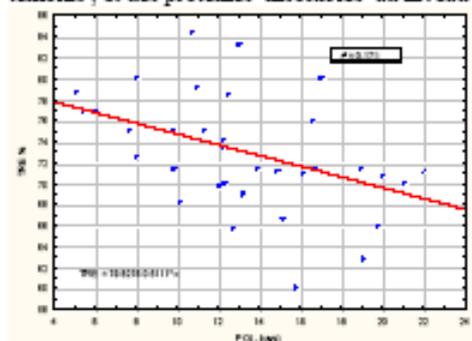


Figure. 1 Relation entre le potentiel Osmotique P_o et la TRE%

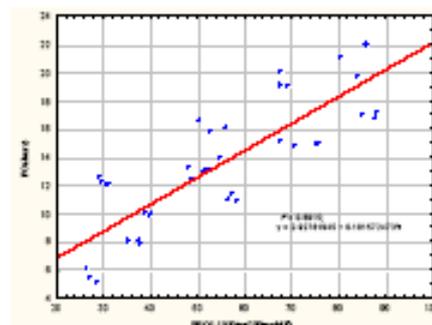


Figure. 2 Relation entre la teneur en proline et le potentiel osmotique en proline P_o

Tableau. 2 : Analyse de la variance des paramètres physiologiques et biochimiques

Source de variation	le potentiel osmotique PO, la proline ($\mu\text{g}/100\text{g MF}$)												la teneur relative en eau TRE%, TRE%				
	PO(- bars)						proline						TRE%				
	ddl	SC	CM	Fcal	P	SC	MS	Fcal	P	SC	CM	Fcal	P	SC	CM	Fcal	P
Géotypes	5	255.867	51.173	207.75	0***	5184.3	1036.9	268.08	0***	266.6	53.3	2.260	0.080*				
traitements	1	422.234	422.234	1714.15	0***	7059.6	7059.6	1825.26	0***	192.7	192.7	8.167	0.0086**				
Géotypes x traitements	5	3.204	0.641	2.60	0.05129*	612.1	122.4	31.65	0***	23.7	4.7	0.201	0.958*				
Erreur	24	5.912	0.246			92.8	3.9			566.2	23.6						
Total	35																

*, ** et *** significative a 5%, 1% et 0.1% respectivement ns, non significative

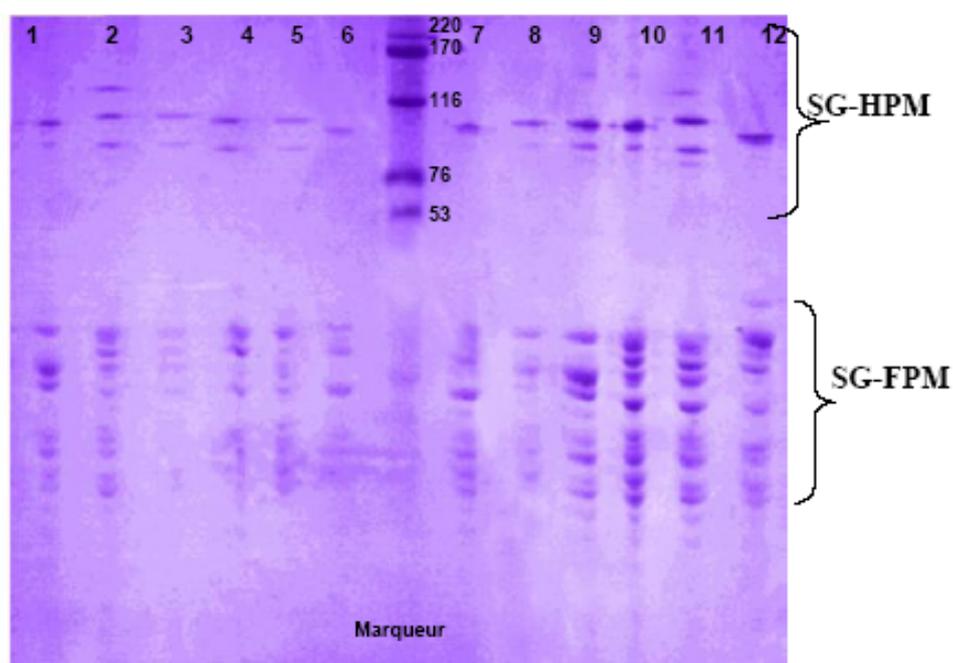


Figure.3 réponse électrophorétique des cultivars étudiés face au stress hydrique
Témoin (irrigué) 1: GTA dur, 2: Djenah Khetaifa, 3: Guemguoum R'khem, 4: Rahouia, 5: Belioumi, 6: Vitron,
Stressé (pluvial) 7: GTA dur, 8: Djenah Khetaifa, 9 Guemguoum R'khem., 10: Rahouia, 11: Belioumi, 12: Vitron.

4. Conclusion

A la lumière des résultats obtenus, nous pouvons conclure que le déficit hydrique constitue un facteur limitant pour la culture du blé dur, en affectant les paramètres physiologiques, et biochimiques, ainsi que des différences variétales importantes sont relevées, ce qui offre des possibilités de sélection de certains génotypes pour une meilleure adaptation à la sécheresse. Il serait peut-être intéressant d'utiliser des techniques basées sur l'analyse génétique des caractères et la recherche des marqueurs moléculaires pour une amélioration de la tolérance au déficit hydrique.

5. Références bibliographiques

- Bousba . R, 2003; effet d'une contrainte abiotique sur les composants biochimiques de la graine de vicia faba L , thèse de magistère univ Mentouri Constantine Algérie.
- Farshadfar. E, Ghasempour H and Vaezi H, 2008. Molecular aspects of drought tolerance in Bread wheat (*T.Aestivum*) . Pakistan journal of biological sciences : 11 (1) 118- 122.
- Ghasempour, H. R., A. A. Hojatjalali and A.R. Rangin, 2007. Physiological changes, proline, total protein, protein analysis and potassium of the sugar beet plants in response to Beet cyst Nematodes, *Heterodera schachtii*. Journal of Int. J.Bot., pp: 1-6.
- Ramanjulu S; and Sudhakar C, (1997). Drought tolerance in party related to amino-acid accumulation and ammonium assimilation: a comparative study into Melbary genotypes difference in drought sensitive. *Plant Physiol*, 150: 345-350.
- Sandeep S, Gurpreet S, PrbhjeetS, Narpinder S I, 2008. Effect of water stress of grain development on the characteristics of starch and protein of different wheat varieties . Food chemistry 108 : 130 - 139.
- Talamali L, 2000. La libération du marché des céréales en Algérie. *Symp. Blé 2000*, 11-19.
- Ykhlef. N. Djekoum. A., Bensari. M. , Vignes D , 2000 ; l'efficacité de l'utilisation de l'eau marqueur physiologique de la résistance à la sécheresse chez le blé dur (*Triticum durum Desf*). Sciences & technologie , 10 : 87 - 92
- Zarei, L., 2006. Evaluation of physiological indicators of drought tolerance and adaptation in bread wheat. M. Sc Thesis, Razi University, Kermanshah, Iran.
- Zouglie H; Karuna L; Zhongming Z; Verma D.P.S, 2000. Removal of feedback inhibition of 1-pyrroline-5-carboxylate synthetase results in increased proline accumulation and protection of plants from osmotic stress 1. *Plant Physiol.*, Vol. 122, p: 1129-1136.

Screening for Drought Tolerance Using Molecular Markers and Phenotypic Diversity in Durum Wheat Genotypes

¹Ratiba Bousba, ²Michael Baum, ¹Abdelhamid Djekoune, ²Samer Labadidi, ²Abdulkader Djighly,
³Kadour Benbelkacem, ⁴Mustapha labhilili, ⁴Fatima Gaboun and ¹Nadia Ykhlef

¹Laboratory of Genetics, Biochemistry and Plant Biotechnology,
Department of Biology and Ecology, Faculty of Natural Sciences and Life,
University of Mentouri, Constantine, Route Ain El Bey, 25000 Constantine, Algeria

²Laboratory of Biotechnology,
International Centre for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA), 5466 Aleppo, Syria

³Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), Constantine, Algeria

⁴Biotechnology Unit, Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), P.O. Box 415, Rabat, Morocco

Abstract: Wheat is one of the most important staple food crops in the world is adversely affected by drought. Understanding its genetics and genome organization using molecular markers is of great value for plant breeding purposes. The aim of the present study was to assess informativeness and efficiency of 26 different molecular markers for genetic diversity among 40 durum wheat comprising landraces, old, moderate and improved durum wheat. Phenotypic diversity was evaluated by six traits (yield and its components and time to heading). Significant variation was noted for all parameters. Analysis of principal components contributes determine 74% of the diversity. Cluster analysis was performed to construct dendrogram using Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean “UPGMA” based on Euclidean distance of genotypes. Five groups were revealed; landraces and old varieties were found to have a characteristic feature of high plant height, moderate yielding and thousand grain weight and reduced days to heading. This indicated that landraces were relatively earlier and relatively taller than the improved varieties. High levels of polymorphism were recorded for SSR markers used in this study. A total of 136 fragments were obtained from the 26 SSR primers and all the bands were polymorphic across all the genotypes screened, most of them were polymorphic. The polymorphism information content (PIC) values ranged from 38 % to 94%, with an average of 74%. These findings provide basis for future efficient use of these molecular markers in the genetic analysis of durum wheat and new strategies could be developed to safeguard and improve our germoplasm for drought tolerance.

Key words: Durum wheat % Landraces % Yield % Diversity % PCA % UPGMA % PIC and SSR

INTRODUCTION

Cereals are most important food crops on earth and provide 70 percent of the world's population food. Generally, three quarters of energy and half of essential protein for the human come from grains and cereals. Wheat (*Triticum spp.*) is the second major food crop of the world in its importance next to rice. Durum wheat (*Triticum durum* Desf), is grown mainly in the dry land of the Mediterranean region under stressful and variable environmental conditions. To identify drought tolerant

germplasm, the empirical selection approach is employed. For a successful breeding program, the presence of genetic diversity and variability play a vital role. Genetic diversity is essential to meet the diversified goals of plant breeding such as breeding for increasing yield, wider adaptation and desirable quality. Genetic divergence analysis estimates the extent of diversity existed among selected genotypes [1]. The improvement of durum wheat is based on the use of the genetic variability of the local cultivars [2]. These genetic resources contain several important agronomic and resistance genes [3-5].

Corresponding Author: Ratiba Bousba, Laboratory of Genetics, Biochemistry and Plant Biotechnology,
Department of Biology and Ecology, Faculty of Natural Sciences and Life, University of Mentouri,
Constantine, Route Ain El Bey, 25000 Constantine, Algeria.

In Algeria, several local cultivars are currently threatened to disappear, because they are replaced by the new durum wheat varieties. Thus, to preserve these genetic resources, threatened cultivars should be submitted to reliable conservation and selection program. The use of fluorescently labeled microsatellite markers for genotyping on automated sequencers offers many advantages over analysis using traditional autoradiographic or silver stained detection techniques [6]. Semi automated methods of SSR genotyping are gradually replacing manual systems in genetics research. These methods facilitate the efficient application of microsatellite markers for high throughput mapping [7], pedigree analysis [8], fingerprinting of accessions [9] and analysis of genetic diversity with more accurate genotyping [10]. In this study the genetic diversity for drought screening was assessed in two ways; analysis of phenotypic diversity permitted the characterization of 40 cultivars and molecular study using 26 microsatellites fluorescently labeled.

MATERIALS AND METHODS

Plant Materials and DNA Isolation: The grains of forty tetraploid wheat genotypes from diverse origin (Table 1)

provided from Technical Institute of the Field Crops El khroub Constantine (ITGC) and Wheat NEPAD Program, comprising landraces, these local varieties are commonly cultivated in different location of Algerian condition climate (arid and semi arid) since 1907, differing in annual temperatures and precipitations. Passing yield trials successfully indicates high genetic potential of these cultivars for adaptation to different stresses like drought, heat, cold and salinity, moderate and modern varieties were planted in field at the technical institute crop (ITGC), using lines with 3 m length and 1.2 m width on the basis of a randomized complete block design with three replications. During the growth season the traits including heading time (DH), plant height (PH), number of grains per spike (NGS), thousand grain weight (TGW), number of spikes per square meter (NS/m²) and grain yield (GY) were measured. For molecular analysis, all wheat cultivars were sown in small plastic pots in a growth chamber providing normal growing conditions at ICARDA center. Total genomic DNA was isolated from fresh leaves by a modification of the method described by Saghai-Maaroof *et al.* [11]. The DNA quality and concentration were estimated using agarose gel (1%), as well as visual comparison with known concentrations of phage lambda DNA.

Table 1: Origin of studied varieties

No	Varieties	Origin	No	Varieties	Origin
1	Bidi17	Algeria	21	HAURANI	Syria/Jordan
2	Col	Italy	22	SAHEL	Algeria (Elkhroub)
3	Can	Italy	23	SENATORE-CAPELLI	Italy
4	Beltagy	ICARDA	24	YAVAROS-79	Cimmyt (Mexico)
5	Bouslem	Algeria	25	Ofonto	Italy
6	Benswif	Egypt	26	Mrf1/Stj2//Gdr2/Mgn1	ICARDA/Algeria
7	Waha	ICARDA	27	Otb4/3/HFN94N-8/Mrb5//Zna-1	ICARDA/Algeria
8	Oued Znatie	Algeria	28	Oss1/Stj5/5/Bidra1/4/Bezaiz-SHF//SD-19539/Waha/3/Stj/Mrb3	ICARDA/Algeria
9	Hedba3	Algeria	29	F4 13/3/Arthur71/Lahn/Blk2/Lahn/4/Quarmal ICAMOR-TA4-69	ICARDA/Algeria
10	Cirta	Algeria	30	Lahn/Ch12003	ICARDA/Algeria
11	Amar	Algeria	31	Ter-1/3/Stj3//Bcr/Lks4	ICARDA/Algeria
12	Djenah khotifa T	Tunsia	32	Villemur/3/Lahn//Gs/Stk/4/Dra2/Bcr/5/Bcr/Lks4/4/ Bezaiz-SHF//SD-19539/Waha/3/Stj/Mrb3	ICARDA/Algeria
13	line3d	Egypt	33	Adnan-1	ICARDA/Algeria
14	CAPEITI 8	Italy	34	Miki-2	ICARDA/Algeria
15	CHEN 'S'	Cimmyt/Algeria	35	Rahouia	Algeria
16	KORIFLA = SHAM-3	Syria	36	Guemgoum r'kham	Algeria
17	TELL 76	Algeria (Elkhroub)	37	Djenah khotifa	Algeria
18	TASSILI (RABI/FG)	Algeria (Elkhroub)	38	Vitron	Spain
19	COCORIT C 71	Cimmyt (Mexico)	39	Béliouni	Algeria
20	KYPEROUNDA	Cyprus	40	Gta dur	Cimmyt (Mexico)

Table 2: Description of the SSR loci used in this study

Marker	Forwrd primer (5'-> 3')	Reverse primer (5'-> 3')	Len	Lab.	Ps
WMC54	TATTGTGCAATCGCAGCATCTC	TGCGACATTGCAACCACTTCT	22	NED	142
Wmc63	GTGCTCTGGAAACCTTCTACGA	CAGTAGTTTAGCCTTGGTGTGA	22	VIC	192
WMC78	AGTAAATCCTCCCTTCGGCTTC	AGCTTCTTTGCTAGTCCGTTGC	22	Fam	241
WMC105	AATGTCATGCGTGTAGTAGCCA	AAGCGCACTTAACAGAAGAGGG	22	Fam	192
WMC_150	CATTGATTGAACAGTTGAAGAA	CTCAAAGCAACAGAAAAGTAAA	22	NED	165
WMC_153	ATGAGGACTCGAAGCTTGGC	CTGAGCTTTTGCCTGTTGAC	20	Fam	177
WMC_165	CACACTCGCACGATTTTCTAT	TCGGTTACTGGAAGTGGTCT	22	NED	188-193
WMC167	AGTGGTAATGAGGTGAAAGAAG	TCGGTCGTATATGCATGTAAAG	22	VIC	185
WMC168	AACACAAAAGATCCAACGACAC	CAGTATAGAAGGATTTTGTAGAG	22	Fam	319
WMC177	AGGGCTCTCTTAATTTCTTGCT	GGTCTATCGTAATCCACCTGTA	22	VIC	184
WMC179	CATGGTGGCCATGAGTGGAGGT	CATGATCTTGCCTGTGCGTAGG	22	VIC	184
WMC235	ACTGTCCTATCCGTGCACTGG	GAGGCAAAGTTCTGGAGGTCTG	22	VIC	235
WMC307	GTTTGAAGACCAAGCTCCTCCT	ACCATAACCTCTCAAGAACCCA	22	NED	145
WMC322	CGCCCCACTATGCTTTG	CCCAGTCCAGCTAGCCTCC	17	NED	95
WMC445	AGAATAGTTCCTGGGCCAGTC	GAGATGATCTCTCCATCAGCA	22	Fam	229
WMS06	CGT ATC ACC TCC TAG CTA AAC TAG	AGC CTT ATC ATG ACC CTA CCT T	22	VIC	207-196
WMS108	ATT AAT ACC TGA GGG AGG TGC	GGT CTC AGG AGC AAG AAC AC	20	Fam	135-137
WMS118	GAT GGT GCC ACT TGA GCA TG	GAT TG TCA AAT GGA ACA CCC	20	Fam	110
WMS135	TGT CAA CAT CGT TTT GAA AAGG	ACA CTG TCA ACC TGG CAA TG	20	VIC	153-176
WMS149	CAT TGT TTT CTG CCT CTA GCC	CTA GCA TCG AAC CTG AAC AAG	21	NED	161
WMS169	ACC ACT GCA GAG AAC ACA TAC G	GTG CTC TGC TCT AAG TGT GGG	22	VIC	220
WMS198	TTG AAC CGG AAG GAG TAC AG	TCA GTT TAT TTT GGG CAT GTG	20	Fam	130
WMS30	ATC TTA GCA TAG AAG GGA GTG GG	TTC TGC ACC CTG GGT GAT TGC	21	VIC	196-205
WMS304	AGG AAA CAG AAA TAT CGC GG	AGG ACT GTG GGG AAT GAA TG	20	VIC	202
WMS375	ATTGGCGACTCTAGCATATACG	GGGATGTCTGTCCATCTTAGC	22	NED	156-204

Len; length, Lab; labels, Ps; product size

SSR Analysis: For SSR analysis, DNA concentration was adjusted to 50 ng 26 and primer pairs (Table 2), were chosen among the publicly available sets catalogued in the Grain Genes database (<http://wheat.pw.usda.gov>) as *WMC* (*Xwmc*) and as described by Roider *et al.* [12] for *WMS* (*Xgwm*). PCR amplification solution was prepared in a volume of 10 µl using 50 ng genomic DNA, 0.2 mM dNTP, 1.5m M MgCl₂, 10 pmol of each primer (forward and reverse), 0.5 U *Taq* polymerase. For multiplexing, sets of 1-3 SSRs with different fluorescent dyes such as blue (FAM), green (VIC), or yellow (NED) for the forward primers have been prepared. The SSR-PCR amplification of genomic DNA was done by incubating the DNA samples at 94°C for 4 min, then 35 cycles comprising 94°C for 1 min, annealing of primer at 58-60°C for 1 min and then extension at 72°C for 1 min. The final extension was carried out at 72°C for 7 min in Applied Biosystems Thermocycler. After PCR amplifications, fragments were electrophoretically separated on an ABI Prism 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems/HITACHI, Foster city, CA, USA). Before multiplexing markers, each PCR

product was optimized for genotyping on ABI 3100. For submission of samples into ABI 3100, 1 µl of this PCR mix was added to 5µl ROX (formamide) containing the Gene scan G350 standard and then heated to 95°C for 5min (denaturation).

Statistical Analysis and Data Scoring: Phenotypic data were analyzed by the General Linear Model (GLM) procedure of the SAS version 9.1 (SAS Institute, 1987, Cary, NC, USA). Agronomical traits were used in multivariate analysis with the major goals to distinguish between varieties and to determine the main characters that allow differentiation between the varieties and geographical origin. The distance between individus, was calculated with similarity coefficient of Manhattan "complete linkage", than regroupment was performed with method of Unweighted Pair Groups Method of Analysis (UPGMA). These analyses were carried out using the DARwin 5.0.148 software program available at (<http://darwin.cirad.fr/darwin/Home.php>).

Molecular Data Analysis: After extracting microsatellite data from the ABI 3100 sequencer, they were analyzed for allele calls with Gene Mapper software version 3.7 (Applied Biosystems). Allelic variation and polymorphism information content (PIC) was analyzed using Power marker 3.25 (<http://statgen.ncsu.edu/powermarker/index.html>).

RESULTS AND DISCUSSION

Phenotypic Evaluation: The means, standard deviation, covariance coefficient and ranges of six measured agronomic traits for 40 studied genotypes are presented in (Table 3). The studied varieties showed high significant differences in all six traits at $P < 0.01$ (Table 4). Coefficient of variance (CV %) for all studied traits are shown in Table 3. High CV values were shown for NS/m² (74.40%) and NGS (79.46 %) indicating high variation in the studied genotypes for these traits (Table 3). Significant positive correlations ($P < 0.01$) were observed between NGS, TGW and GY (Table 5). The strongest positive correlation was

between TGW and NGS ($r = 0.84$) and between GY and TGW ($r = 0.81$) confirming the findings of Koksai [13] that thousand grain weight increased the yield directly. Gashaw *et al.* [14] showed also that thousand grain weight had significant positive correlation with grain yield and suggested that these traits could be used as a direct criterion for improving yield of durum wheat (Table 5). The principal components analysis (PCA) explained 74 % of the total variation (Fig. 1). The first axis explained 54% of the total variability and the most associated traits were days to heading, number of spikes/m², number of grains per spike, weight of thousand grains and yield. The first dimension can be named as the yield potential and drought tolerance. The second PCA axis explained 30% and was mostly related to plant height, weight of thousand grains and yield. This axis evaluate the reproductive vigor PH, yield and compounds of yield (number of grains per main spike Thousand grain weight, number of spikes per meter square, grain yield and phenological traits (days to heading).

Table 3: Mean performance values for the studied traits

Variable	Minimum	Maximum	Mean	SD	CV%
DH	99.00	130.00	107.74	5.17	7.09
PH	51.00	126.00	93.19	2.56	18.38
NS/m ²	49.00	433.00	192.46	2.86	74.40
NGS	16.72	438.00	227.35	4.16	79.46
TGW	20.00	46.30	38.26	1.47	15.72
GY	18.00	46.60	34.41	1.78	21.05

Table 4: Analysis of variance for the studied traits

ANOVA				
Traits	d.f	SS	MS	F
DH	39	6397	164**	23.8
PH	39	34764	891**	465.5
NS /m ²	39	2037034	52232**	11431
N G/S	39	1244980	31923**	15662.5
TGW	39	4263.2	109,3**	191.5
GY	39	6184.3	158,6**	204.2

** Significant at 0.01 level of probability.

Table 5: Relationship between phenotypic traits for all studied genotypes

Traits	DH	PH	NS/m2	NGS	TGW	GY
DH	1	0,226	0.005	0.180	0.242	0.154
PH		1	0.302	0.256	0.111	0.142
NS/m ²			1	0.687	0.542	0.711
NGS				1	0.845	0.738
TGW					1	0.809
GY						1

*, **: Significant at 0.05 and 0.01 levels of probability, respectively

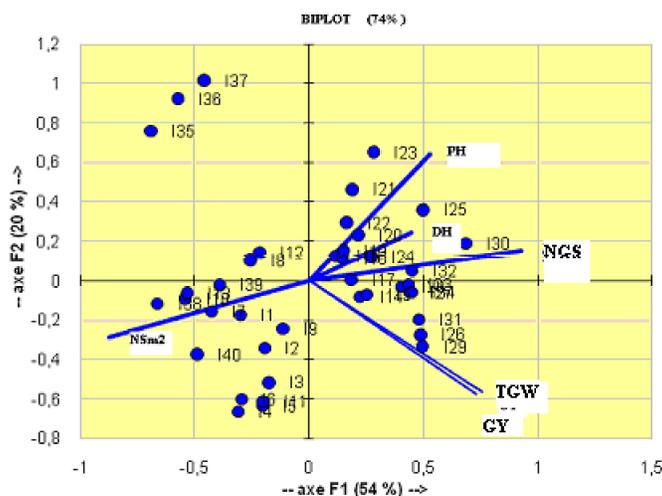


Fig. 1: Distribution of the 40 Durum wheat accessions for the agronomical and phenological Traits in the plan of axes 1 and 2.

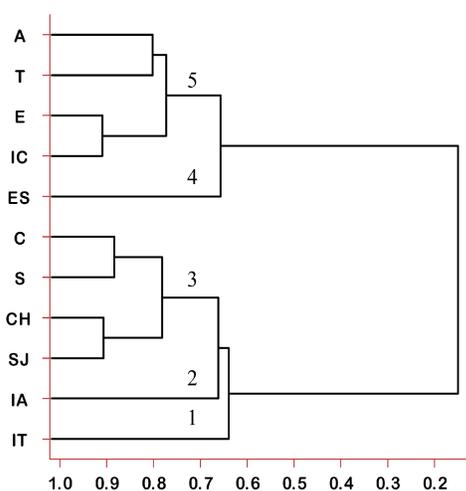


Fig. 2: Cluster mean analysis. Euclidean genetic matrices of 40 genotypes were made using UPGMA based on Euclidean distance of genotypes geographic origin.

A. Algeria, IT. Italy, IC. Icarda, T. Tunisie, E. Egypt, C. Cimmyt, S.syrie, CH.chypre, SJ. Syrie jordanie, IA. Icarda/algeria and ES. Spain.

Cluster, completing PCA analysis and according to genotypes geographical origin, based on their phenotypic traits, five groups were revealed. Also, the genetic distance, calculated of this cluster revealed that these five distances were significantly distant and lie between the ranges of 9.1%, observed between CIMMYT and SYRIA to 47.05% obtained between Spain and ICARDA/Algeria (Fig. 2). The first group includes genotypes from Algeria, Tunisia, Egypt and ICARDA, this group was found to

have a characteristic feature of high plant height, moderate yielding and thousand grain weight and reduced days to heading. This indicated that landraces were relatively earlier and taller than the improved varieties. This is a typical feature of landraces, which excel in capacity to support panicle growth by large stem reserve mobilization [15-17]. The second group includes Spain varieties characterized by reduced plant height and days to heading and low yielding. The third group includes Cimmyt, Syria, Cyprus and Syria/Jordan genotypes characterized by low NGS, while the fourth group consists of ICARDA/Algeria genotypes characterized by high number of grains per spike, thousand grain weight and moderate days to heading. The last one contains Italy genotypes with long days to heading (Fig. 2).

Genetic Diversity and SSR Markers Characteristics:

Data derived from these experiments were analyzed to evaluate the usefulness of the microsatellites for genetic diversity of the 40-durum wheat varieties. The genetic diversity was measured by the polymorphic information content (PIC). According to Vaiman *et al.* [18], loci polymorphism can be considered high, medium or low if $PIC > 0.5$, $0.5 > PIC > 0.25$ and $PIC < 0.25$, respectively. A total of 136 fragments were obtained from the 26 SSR primers, the majority of bands were polymorphic across all genotypes screened. The majority of primers used in this study generated polymorphic profiles with variable and significant genetic diversity. Data in Table 6 represents the allelic frequency and all SSR estimated parameters of diversity, so all studied genotypes showed genetic diversity, presenting high heterozygosis attained 0.9750

Table 6: Characteristics of the SSR markers and their number of alleles, allele frequency, availability, heterozygosity and PIC values calculated for 40 durum wheat genotypes

Marker	Major.			Gene		
	Allele Frequency	Allele no	Availability	Diversity	Heterozygosity	PIC
wmc63	0.4500	9.0000	1.0000	0.6972	0.9750	0.6516
WMC165_1	0.2750	9.0000	1.0000	0.8075	0.6500	0.7816
WMC165_2	0.5000	9.0000	0.9500	0.7147	0.0000	0.6960
WMC445	0.7500	5.0000	0.7000	0.4133	0.0000	0.3858
WMC150_1	0.4211	11.0000	0.9500	0.7116	0.8947	0.6698
WMC150_2	0.5000	11.0000	0.9000	0.6894	0.1111	0.6575
WMC177_1	0.1375	24.0000	1.0000	0.9400	0.1750	0.9369
WMC177_2	0.2778	10.0000	0.9000	0.8422	0.0556	0.8247
WMC78_1	0.1500	22.0000	0.5000	0.9350	0.5000	0.9315
WMS06	0.3333	8.0000	0.3000	0.8090	0.0833	0.7866
WMC105_1	0.2353	18.0000	0.8500	0.8676	0.1471	0.8558
WMC105_2	0.2778	11.0000	0.4500	0.8549	0.1111	0.8409
WMS149	0.3974	16.0000	0.9750	0.7748	0.4103	0.7519
WMC235	0.3333	4.0000	0.1500	0.7222	0.0000	0.6713
WMS304	0.1795	23.0000	0.9750	0.9191	0.3846	0.9140
WMS198	0.4306	22.0000	0.9000	0.7797	0.2500	0.7661
WMS375	0.3289	14.0000	0.9500	0.7715	0.1316	0.7411
WMS135	0.6216	11.0000	0.9250	0.5961	0.0000	0.5823
WMC168	0.5556	4.0000	0.2250	0.6173	0.0000	0.5688
WMC322	0.3158	14.0000	0.9500	0.8148	0.8684	0.7934
WMC54_1	0.7167	9.0000	0.7500	0.4706	0.1333	0.4541
WMC54_2	0.4342	10.0000	0.9500	0.7510	0.1316	0.7258
WMC153_1	0.7167	5.0000	0.7500	0.4494	0.0333	0.4113
WMC153_2	0.5294	9.0000	0.8500	0.6799	0.0000	0.6566
WMC167	0.2188	12.0000	0.4000	0.8652	0.1875	0.8520
WMS169	0.2000	20.0000	1.0000	0.9056	0.9000	0.8988
WMS108	0.3194	18.0000	0.9000	0.8148	0.3889	0.7958
WMS30_1	0.1290	23.0000	0.7750	0.9251	0.7097	0.9203
WMS30_2	0.2727	12.0000	0.2750	0.8719	0.3636	0.8614
WMC307	0.4545	4.0000	0.5500	0.6570	0.0909	0.5934
WMC179	0.2375	17.0000	1.0000	0.8794	0.6500	0.8691
WMS118	0.2237	17.0000	0.9500	0.8736	0.8684	0.8623
Mean	0.3726	12.8438	0.7719	0.7632	0.3189	0.7409 ~ 0.0255

for *wmc63* primer. The locus *wms135* showed 11 homozygous alleles (Table 6). The heterozygosity mean for the 26 SSR primer pairs was about 0.318. The components of genetic diversity of each marker obtained with an average data availability of 76% are shown in Table 6. In the present study, SSR markers were able to discriminate between the 40 wheat genotypes studied. The nine genomic microsatellite primers *wmc177*, *wmc78*, *wms304*, *wms30*, *wmc105*, *wmc179*, *wms118*, *wms149* and *wms375* were sufficient to differentiate all of the wheat genotypes since they generated a high number of alleles with high PIC values. The primers *WMC54* and *WMC153* were less polymorphic with PIC values 0.45 and 0.41, respectively (Table 6). Among the 26 SSR primer pairs used in this study, 24 SSR primers were polymorphic. In total, 136

alleles were detected for SSR primers, with an average of 13 alleles per locus. The lowest number of alleles was presented by *wmc235* and *wmc168* (4 alleles), while the highest one was of *wmc177* (24 alleles). Summarized data for the SSR loci and their PIC values are presented in Table 6. The PIC value, a reflection of allelic diversity and frequency among the durum wheat genotypes analyzed, were generally high for all tested SSR loci. PIC values ranged from 38 % to 94%, with an average of 74%, which 20 SSR loci revealed PIC values higher than 0.70. Among these; *wmc177*, *wmc78*, *wms304*, *wms30*, *wmc105*, *wmc179*, *wms118*, *wms149* and *wms375* are noteworthy due to their relatively high polymorphism (24, 22, 23, 23, 18, 17, 17, 16 and 14 alleles) and high PIC values (94%, 94%, 91%, 92%, 86%, 87%, 86%, 75% and 74%), respectively.

The PIC can be looked as the measurement of usefulness of each marker in distinguishing one individual from another. The PIC values and rare alleles are proved to be useful information in genetic diversity analysis of genotypes. The polymorphism of SSR loci detected in this study was consistent with data obtained in some previous studies [19, 20]. The simple sequence repeats (SSRs) represent the most suitable marker system in wheat [21] and have been successfully used to characterize genetic diversity in advanced wheat breeding materials [22].

This study provides a detailed analysis and quantification of genetic diversity in wheat genotypes. Data also supported the finding that microsatellites can be effectively used for studying genetic diversity in durum wheat. Some of these markers will be used as MAS in future wheat breeding programmes. The alleles revealed by markers showed a high degree of polymorphism, this suggested that the genotypes selected for this study harbored enough genetic divergence. The markers showed an average PIC values of which confirm that SSR markers used in this study were highly informative because PIC values higher than 0.50 indicate high polymorphism. Markers with PIC values of 0.5 or higher are highly informative for genetic studies and are extremely useful in distinguishing the polymorphism rate of marker at specific locus [23].

REFERENCES

1. Mondal, M.A., 2003. Improvement of potato (*Solanum tuberosum* L.) through hybridization and *in vitro* culture technique. PhD Thesis, Rajshahi University, Rajshahi, Bangladesh.
2. Damania, A.B., S. Hakim and M.Y. Moualla, 1992. Evaluation of variation in *Triticum dicoccum* for wheat improvement in stress environments. *Hereditas*, 116: 163-166.
3. Grausgrubera, H., M. Oberforsterb, G. Ghambashidze and P. Ruckenbauera, 2005. Yield and agronomic traits of Khorasan wheat (*Triticum turanicum* Jakubz.). *Field Crops Research*, 91: 319-327.
4. Yahyaoui, N., S. Brunner and B. Keller, 2006. Rapid generation of new powdery mildew resistance genes after wheat domestication. *The Plant Journal*, 47: 85-89.
5. Hysing, S.C., A. Merker, E. Liljeroth, M.D. Koebner Robert, F.J. Zeller and S.L.K. Hsam, 2007. Powdery mildew resistance in 155 Nordic bread wheat cultivars and landraces. *Hereditas*, 144: 102-119.
6. Coburn, J.R., S.V. Temnykh, E.M. Paul and S.R. McCouch, 2002. Designed application of microsatellite marker panels for semi-automated genotyping of rice (*Oryza sativa* L.). *Crop Sci.*, 42: 2092-2099.
7. Ponce, M.R., P. Robles and J.L. Micol, 1999. High-throughput genetic mapping in *Arabidopsis thaliana*. *Mol. Gen. Genet.*, 261: 408-415.
8. Lexer, C., B. Heinze, H. Steinkellner, S. Kampfer, B. Ziegenhagen and J. Glossl, 1999. Microsatellite analysis of maternal half-sib families of *Quercus robur*, pedunculate oak: detection of seed contaminations and inference of the seed parents from the off-spring. *Theor. Appl. Genet.*, 99: 185-191.
9. Carrano, A.V., J. Lamerdin, L.K. Ashworth, B. Watkins, E. Brans-Comb and T. Slezak, 1989. A high resolution, fluorescence-based, semi-automated method for DNA fingerprinting. *Genomics*, 4: 129-136.
10. Macaulay, M., L. Ramsay, W. Powell and R. Waugh, 2001. Representative, highly informative genotyping set of barley SSRs. *Theor. Appl. Genet.*, 102: 801-809.
11. Saghai Maroof, M.A., K.M. Soliman, R.A. Jorgensen and R.W. Allard, 1984. Ribosomal DNA spacer length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 81: 8014-8019.
12. Roider, M.S., V. Korzum, K. Wendehake, J. Plaschke, M. Tixier, P. Leroy and M.W. Ganal, 1998. A microsatellite map of wheat. *Genetics*, 149: 2007-2023.
13. Koksai, Y., 2009. Path coefficient analysis of some yield components in durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *Pakistan Journal of Botany*, 41: 745-751.
14. Gashaw, A., H. Mohammed and H. Singh, 2007. Selection criterion for improved grain yields in Ethiopian durum wheat genotypes. *African Crop Science Journal*, 15: 25-31.
15. Olivera, J.A., F. Mezquita, T. Teijeiro, C.G. Ibarlucea and J. Pineiro, 2000. Agromorphological and grain quality characterizations of northern Spanish wheats under low-nitrogen conditions. *J. Agron.*, 2: 683-689.
16. Masood, S., A. Javaid, A. Rabbani and R. Anwar, 2005. Phenotypic diversity and trait association in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) landraces from Baluchistan. *Pakistan Journal of Botany*, 37: 949-957.
17. Sourour, A., K. Chahine, T. Youssef, S.A. Olfa and S.A. Hajerm, 2010. Phenotypic diversity of Tunisian Durum wheat landraces. *African Crop Science Journal*, 18(1): 35-42.

18. Vaiman, D., D. Mercier and G. Moazai, 1994. A set of 99 cattle microsatellite, characterization, synteny mapping and polymorphism. *Mamm. Genome*, 5: 288-297.
19. Taranto, F., G. Mangini, G. Laido, P. De Vita, A.M. Astrangelo, L. Cattivelli, R. Papa and A. Blanco, 2010. Structure and genetic diversity in a collection of Tetraploid wheats. *Proceedings of the 54th Italian Society of Agricultural Genetics Annual Congress Matera, Italy*, pp: 978-988.
20. Roy, J.K., R. Bandopadhyay, S. Rustgi, H.S. Balyan and P.K. Gupta, 2006. Association analysis of agronomically important traits using SSR, SAMPL and AFLP markers in bread wheat. *Current Science*, 90: 683-689.
21. Hammer, K., 2000. Microsatellite markers as new tool for distinguishing diploid wheat species. *Genet. Resour. Crop Evol.*, 47: 497-505.
22. Dreisigacker, S., P. Zhang, M. Van Ginkel, M. Warburton, D. Hoisington, M. Bohn and A.E. Melchinger, 2004. SSR and pedigree analyses of genetic diversity among CIMMYT wheat lines targeted to different mega-environments. *Crop Sci.*, 44(2): 381-388.
23. DeWoody, J.A., R.L. Honycutt and L.C. Skow, 1995. Microsatellite markers in white-tailed deer. *J. Hered.*, 86: 317-319.
- Rogers and Tanimoto, 1960. A computer program for classifying plants. *Science*, 132: 1115-1118.