



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'enseignement supérieur et de la  
recherche Scientifique

Université des Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie et Ecologie Végétale



N° d'ordre :23/D3C/59

Série :2023/ECO/03

Thèse Présentée en Vue de l'Obtention du Diplôme de Doctorat  
3ème cycle

Filière : sciences biologiques

Option : Biotechnologie végétale et environnement- Biologie et génomique végétale

*Rôles des dérivés de glutamate et adaptation du blé dur à la  
sécheresse : cas de la proline et de la glutamine.*

Présentée par : **Houda HAYOUN**

Soutenu le : 12/11/2023

*Devant le jury*

**Président:** Pr. Abdelhamid DJEKOUN

Université des Frères Mentouri Constantine I

**Encadreur:** Pr. Nadia YKHLEF

Université des Frères Mentouri Constantine I

**Examineurs :**

Pr. Ratiba BOUSBA,

Université des Frères Mentouri Constantine I.

Dr. Abdelkader BENBELKACEM,

Directeur de recherche INRA Constantine.

Dr. Hakima BELATTAR.

Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf de Mila.

**Année universitaire: 2022/2023**

# Dédicaces

*Je dédie cette thèse :*

***A mon père**, enfin le jour tant attendu. Ce travail est le fruit de tous les sacrifices que vous avez déployé pour mon éducation et ma formation. Je vous dois ce que je suis aujourd'hui et je ferai toujours de mon mieux pour rester à la hauteur de vos attentes. Vous êtes le meilleur père, mon idole qui m'a tant soutenu et cru en moi, J'implore le tout-puissant pour qu'il vous accorde une bonne santé et une vie longue et heureuse.*

***A ma mère**, vous avez toujours été pour moi le symbole de la bonté, un exemple de patience, une source de valeurs et un pilier solide qui m'a tant soutenu et encouragé. Tes prières et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours dans ma vie. Je ne trouverai jamais assez de mots pour exprimer mon amour, ma reconnaissance et ma profonde gratitude que j'ai toujours eu pour vous. Que dieu vous protège et vous garde pour moi.*

***A mon époux**, aucune dédicace ne saurait exprimer ma gratitude et mon respect pour les efforts que tu fais pour que mes ambitions se réalisent. Tu m'as soutenu, réconforté et encouragé dans l'élaboration de ce travail. Je te remercie pour ta compréhension et ta patience, que dieu te préserve et te procure santé et longue vie.*

***A mes filles**, les prunelles de mes yeux. **Lyna**, malgré ton bas âge mais tu as su me remonter le moral quand j'en avais besoin. **lycia**, merci simplement d'exister. Que dieu vous protège et vous garde pour moi.*

*A mes frères **Redha, Yacine et Anis**, pour les encouragements et le soutien que vous m'avez apporté. **A ma belle-sœur Ines**, je te remercie pour ton soutien, ton aide et ta motivation. Que dieu vous garde pour moi et nous resterions toujours réunis et très soudés.*

***A mes beaux-parents**, Vous m'avez très bien accueilli parmi vous, je vous dédie ce travail, témoignage de ma profonde reconnaissance et mon grand respect envers vous. Merci pour vos encouragements permanents et votre soutien moral. Que dieu vous protège et vous accorde santé et longue vie. **A ma belle-sœur Houda**, merci pour tes encouragements et ton aide, tu as été la meilleure nourrisse pour les filles.*

*A toute ma famille, mes oncles, mes tantes, mes cousins et cousines. Surtout ma **tante Sonia** et ma chère cousine **Mima**, merci pour votre soutien indéfectible, vous étiez toujours présentes à mes côtés, que dieu vous préserve et vous apporte santé et bonheur.*

*À la mémoire de mes très chers grands parents, paix à leur âme. **Ma Fella** j'aurais tellement aimé que vous serez présente en ce moment, vous avez tant attendu ce jour.....*

*Houda*

## *Remerciements*

*Mes remerciements s'adressent tout d'abord à Ma directrice de thèse, le Professeur Nadia Ykhlef, pour la confiance qu'elle a su m'accorder, de son soutien constant, ses conseils précieux et sa disponibilité malgré ses nombreuses responsabilités. Je lui suis reconnaissante d'avoir dirigé ce travail par ses critiques constructifs, son professionnalisme et son écoute qui m'ont permis d'accomplir ce travail de thèse.*

*Je remercie respectueusement tous les membres de jury, d'avoir accepté de juger ce travail*

*Merci à monsieur Abdelhamid Djekoun, professeur à l'Université des frères Mentouri Constantine I, de m'avoir fait l'honneur de présider ce jury,*

*Mes remerciements vont également à madame Ratiba Bousbaa, professeur à l'Université des Frères Mentouri Constantine I et madame Hakima Belatar, Docteur au Centre universitaire de Mila pour l'honneur que vous me faites en acceptant d'être rapporteurs de ce travail de recherche et membres de jury.*

*Mon immense gratitude et mon grand respect au docteur Abdelkader Benbelkacem, directeur de recherche INRA pour sa disponibilité, ses conseils et le partage sans limite de ses connaissances. Qu'il soit vivement remercié de l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de juger ce travail de thèse.*

*Je remercie vivement l'ensemble de l'équipe du Laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologie Végétale (GBBV), personnels, enseignants et doctorants :*

*Mr. Nadir Belbekri, Mmes. Ryma Bouldjej, Chafika Zahraoui, Radhia djeghar, pour leur aide et soutien constant tout au long de ce travail de thèse.*

*Mlle. Adra Mouellef, Mlle Karima Bouchemal, Mlle Hamla Chorouk, Mr. Mahmoud Temagout et Mr Kamel Kellou, pour leur aide précieuse, disponibilité et encouragements.*

*Mes remerciements vont aussi à l'équipe TS département équipement pour leur aide et encouragements et spécialement Samira. Un grand merci SAM, vous avez toujours été présente dans les moments les plus difficiles tant sur le plan professionnel que personnel.*

*Mes plus sincères remerciements sont aussi adressés au personnel de CRBt et en particulier Ferial Sellam et Rym Agreed pour leur aide et leur encouragement. Merci Ferial pour la correction de mon article. J'adresse aussi mes chaleureux remerciements à toute l'unité expérimentale ITGC d'El khroub Constantine et plus spécialement à Aymen et loubna pour leur aide précieuse dans le travail du terrain.*

*Je tiens à remercier également Mr Douadi Khlifi, professeur à l'Université des Frères Mentouri Constantine I, de m'avoir accueilli si chaleureusement dans ENSB, de son soutien et ses encouragements.*

*Merci à mon amie d'enfance zahra, pour son soutien et sa présence et je remercie chaleureusement mes amies de promotion : Ihsene, Meriem et Zeineb pour tous les bons moments et les émotions partagés ensemble pendant toutes ces années.*

*Et enfin, je remercie toute personne ayant contribué de près ou de loin pour mener ce travail a terme.*

## Rôles des dérivés de glutamate et adaptation du blé dur à la sécheresse : cas de la proline et de la glutamine

### Résumé

L'ajustement osmotique est considéré comme une caractéristique importante associée à la tolérance à la sécheresse des plantes cultivées. La présente étude s'est fixée comme objectif d'évaluer les réponses physiologiques, biochimiques et moléculaires chez le blé dur soumis au stress hydrique. Ainsi d'étudier les effets de la proline exogène sur la variation de ces paramètres en condition de stress hydrique. Quatre expérimentations ont été réalisées sur dix variétés de blé dur. Deux d'entre elles en conditions contrôlées en chambre de culture et une en conditions semi-contrôlées sous serre et la dernière en plein champs. En conditions contrôlées, le stress hydrique a été imposé par addition de polyéthylène glycol-6000 et sous serre par un arrêt d'arrosage. Tandis que l'essai en plein champs a été conduit durant deux campagnes agricoles 2018/2019 et 2019/2020. Au niveau physiologique et biochimique la caractérisation de la réponse des génotypes a été effectuée en mettant l'accent sur divers indices (conductance stomatique, teneur relative en eau), l'accumulation d'osmolytes (proline, sucres) et les marqueurs du stress oxydatif (teneur en MDA et taux de flux d'électrolytes). D'après Les résultats obtenus, l'arrêt d'arrosage a affecté l'ensemble des paramètres étudiés, révèlent des différences génotypiques hautement significatives pour l'ensemble des paramètres mesurés. De même les résultats obtenus suite à l'ajout du PEG en conditions contrôlées a engendré les mêmes effets sur l'ensemble des génotypes, néanmoins, la présence de la proline exogène a amélioré efficacement la réponse des plantes. Cet effet bénéfique sur la croissance foliaire et racinaire des plantes est accompagné par une amélioration du statut hydrique des plantes et une atténuation dans la teneur des MDA et le taux de fuite d'électrolytes, et par conséquent, il prévient l'altération de l'intégrité membranaire. D'autre part, l'analyse d'expression des gènes candidats a révélé une surexpression des gènes P5CS, P5CR, en conditions stressantes. Les niveaux d'expression les plus marqués sont enregistrés chez les variétés Wahbi et Ain lehma. Une surexpression de ces gènes semble améliorer la tolérance au déficit hydrique. Quant aux résultats obtenus suite aux essais en plein champs, révèlent que l'ensemble des caractères agronomiques, physiologiques et biochimiques restent influencés par la disponibilité en eau. Les résultats obtenus suggèrent la possibilité d'exploiter la proline exogène pour minimiser les effets du stress hydrique.

**Mots clés :** *Triticum durum*, stress hydrique, PEG-6000, tolérance, proline, glutamine, proline exogène.

## **Roles of glutamate derivatives and adaptation of durum wheat to drought: case of proline and glutamine**

### **Abstract**

Osmotic adjustment is considered as an important characteristic associated with drought tolerance in crop plants. The aim of the present study was to evaluate the physiological, biochemical and molecular responses of durum wheat to water stress. We also studied the effects of exogenous proline on the variation of these parameters under water stress. Four experiments were carried out on ten durum wheat varieties. Two of these were carried out under controlled conditions in a growth chamber, one under semi-controlled conditions in the greenhouse, and one in the open field. In the controlled conditions, water stress was imposed by adding polyethylene glycol-6000, and in the greenhouse by stopping watering. While the open field trial was conducted over two crop years 2018/2019 and 2019/2020. At physiological and biochemical level, genotype response was characterized by focusing on various indexes (stomatal conductance, relative water content), osmolyte accumulation (proline, sugars) and markers of oxidative stress (MDA content and electrolyte leak rate). According to the results obtained, stopping watering affected all the parameters studied, revealing highly significant genotypic differences for all the parameters measured.

Similarly, the results obtained following the addition of PEG under control conditions produced the same effects on all genotypes, although the presence of exogenous proline effectively improved plant response. This beneficial effect on leaf and root growth was accompanied by an improvement in plant water status and an attenuation in MDA accumulation and electrolyte leakage rates, and consequently prevented alteration of membrane integrity. On the other hand, expression analysis of candidate genes revealed over expression of the P5CS, P5CR genes under stressful conditions. The highest levels of expression were recorded in the Wahbi and A lehma varieties. Over expression of these genes seems to improve tolerance to water deficit. As for the results obtained from field trials, they reveal that all agronomic, physiological and biochemical traits remain influenced by water availability. The results obtained suggest the possibility of exploiting exogenous proline to minimize the effects of water stress.

**Keywords:** Triticum durum, water stress, PEG-6000, tolerance, proline, glutamine, exogenous proline.

## أدوار مشتقات الغلوتامات وتكيف القمح الصلب مع الجفاف : حالة البرولين والجلوتامين

### ملخص :

يعتبر التناضح الاسموزي سمة هامة مرتبطة بتحمل نباتات المحاصيل للجفاف. الهدف من هذه الدراسة هو تقييم الاستجابات الفسيولوجية والكيميائية الحيوية والجزئية لدى القمح القاسي ودراسة آثار البرولين الخارجي على تلك الاستجابات تحت تأثير الإجهاد المائي. أجريت أربع تجارب على عشرة أصناف من القمح الصلب. اثنان منهما تحت ظروف خاضعة للرقابة المحكمة في غرفة الزرع وواحدة تحت ظروف شبه محكمة في بيت زجاجي والأخيرة تحت الظروف الطبيعية. في ظل ظروف خاضعة للرقابة المحكمة، تم فرض الإجهاد المائي عن طريق إضافة PEG-6000 وفي البيت الزجاجي عن طريق إيقاف الري. في حين أجريت التجربة الأخيرة تحت الظروف الطبيعية خلال الموسمين الزراعيين 2019/2018 و 2020/2019. على المستوى الفسيولوجي والبيوكيميائي، تم دراسة استجابة أصناف القمح بناء على عدة مؤشرات (المحتوى النسبي للماء، التوصيل الثغري، معدل الكلوروفيل)، تراكم محتوى الاسموليت (البرولين والسكريات) و مؤشرات الإجهاد التأكسدي (محتوى MDA ومعدل تسرب الإلكترونات). وفقا للنتائج التي تم الحصول عليها، فإن وقف الري يؤثر على جميع المؤشرات التي تمت دراستها، ويظهر سلوكيات مختلفة للأنماط الجينية المدروسة. وبالمثل، فإن النتائج التي تم الحصول عليها بعد إضافة PEG-6000 تحت ظروف الرقابة المحكمة كان لها نفس التأثيرات على جميع الأنماط الجينية، لكن وجود البرولين الخارجي قد حسن بشكل فعال استجابة النباتات و ساهم في خفض الآثار الضارة الناجمة عن الإجهاد المائي حيث لوحظت تأثيرات ايجابية على نمو الأوراق والجذور للنباتات، تحسن محتوى نسبة الماء في الأوراق، محتوى البرولين، سلامة الأغشية والتخفيف من تراكم MDA. من ناحية أخرى، كشف تحليل التعبير الجيني عن فرط في ترجمة الجينات P5CS و P5CR، في ظل ظروف مجهد. حيث كانت مستويات الترجمة لكلا الجينين أقوى عند الصنفين (Wahbi و A lehma) يبدو أن التعبير المفرط لهذه الجينات يمكنه أن يؤدي إلى تحسين قدرة تحمل نقص المياه. وأثبتت الدراسة من خلال النتائج المتحصل عليها تحت الظروف الطبيعية أن جميع الخصائص الزراعية والفسيولوجية والكيميائية الحيوية تتأثر بتوفر المياه و أكدت كذلك أهمية إضافة البرولين الخارجي لتقليل الآثار السلبية للإجهاد المائي.

**الكلمات المفتاحية:** *Triticum durum*, الإجهاد المائي, PEG-6000, المقاومة, البرولين, الغلوتامين, البرولين الخارجي.

## Liste des abréviations

**ABA** : acide abscissique

**ANOVA** : Analyse de variance

**ACP** : analyse en composantes principales

**ADN** : acide désoxyribonucléique

**ADNc** : acide désoxyribonucléique complémentaire

**ARN** : acide ribonucléique

**ARNm** : acide ribonucléique messenger

**BSA** : albumine de sérum bovin

**cm** : centimètre

**Ct** : Cycle Threshold

**DEPC** : diéthylpyrocarbonate

**Do** : densité optique

**EDTA** : acide éthylène diamine

**EROs** : Espèces réactives de l'oxygène

**REL**: Relative electrolyte leakage

**GS** : glutamine synthétase

**HP** : hauteur de la plante

**ITGC** : Institut Technique des Grandes Cultures.

**MADR** : Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural.

**MDA** : Malondialdehyde.

**MgCl<sub>2</sub>** : Chlorure de Magnésium

**MF** : matière fraîche

**mM** : millimole par litre

**MS** : matière sèche

**Nb E/m<sup>2</sup>** : Nombre d'épis par mètre carré.

**Nb G/E** : Nombre de grains par épi.

**O<sub>2</sub>** : Dioxygène



***p/v*** : poids par volume

**P5C** : pyroline-5-carboxylat

**P5CR** : pyroline-5-carboxylate réductase

**P5CS** : pyroline-5-carboxylate synthétase

**PCR** : réaction de polymérisation en chaîne (polymerase chain reaction)

**PEG** : polyéthylène glycol.

**PF** : poids frais.

**PMG** : Poids de mille grains.

**Pro** : Proline.

**PT** : poids de turgescence.

**PS** : poids sec.

**Rdt** : Rendement en grains.

**rpm** : rotation par minute.

**RT-PCR** : Reverse Transcription-qPCR

**S-N-K** : Student–Newman–Keuls.

**TBA** : Acide thiobarbiturique.

**TCA** : Acide trichloroacétique.

**Tris** : Tris-hydroxyméthyl-aminométhane.

**TRE** : Teneur Relative en Eau.

**mg** : milligramme

**μL** : microlitre

**μM** : micromole par litre



## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Répartition de la production céréalière sur le territoire national selon les statistiques du ministère de l'agriculture .....	5
<b>Figure 2:</b> les effets du stress hydrique sur les processus morphologiques, physiologiques et biochimiques des plantes .....	10
<b>Figure 3:</b> Fonctions des gènes induits dans la réponse et la tolérance au stress .....	13
<b>Figure 4:</b> Représentation des réponses de plantes au stress abiotique .....	14
<b>Figure 5:</b> Composition chimique de la proline .....	16
<b>Figure 6:</b> Modèle de biosynthèse et dégradation de la proline dans une cellule végétale .....	18
<b>Figure 7:</b> Les fonctions de la proline dans les plantes .....	21
<b>Figure 8:</b> effets de l'application exogène de la proline sous différentes situations de stress...	22
<b>Figure 9:</b> Les multiples isoformes de la glutamine synthétase (GS) et ses rôles dans la tolérance au stress abiotique. ....	25
<b>Figure 10:</b> Dispositif de culture sous serre .....	28
<b>Figure 11:</b> Dispositif de l'expérimentation en plein champs .....	30
<b>Figure 12:</b> Utilisation du SYBR Green en cours de QPCR .....	37
<b>Figure 13:</b> Principe de la quantification par PCR en temps réel .....	38
<b>Figure 14:</b> Schéma récapitulatif des expérimentations .....	41
<b>Figure 15:</b> Evaluation de la teneur relative en eau (TRE) dans les feuilles des 10 variétés de blé dur sous condition contrôle (T) et sous condition de stress (S).....	43
<b>Figure 16:</b> Evaluation de la conductance stomatique dans les feuilles des 10 variétés de blé dur sous condition contrôle (T) et sous condition de stress (S). ....	44
<b>Figure 17:</b> Evaluation de la teneur en chlorophylle totale dans les feuilles des 10 variétés de blé dur sous condition contrôle (T) et sous condition de stress (S).....	45
<b>Figure 18:</b> Evaluation de la teneur en proline dans les feuilles des 10 variétés de blé dur sous condition contrôle (T) et sous condition de stress (S). ....	46
<b>Figure 19:</b> Evaluation de la teneur en sucre soluble dans les feuilles des 10 variétés de blé dur sous condition contrôle (T) et sous condition de stress (S). ....	47
<b>Figure 20:</b> Evaluation de l'activité de la glutamine synthétase (GS) dans les feuilles des 10 variétés de blé dur sous condition contrôle (T) et sous condition de stress (S). ....	48
<b>Figure 21:</b> Représentation descriptive par analyse en composantes principales (ACP) des valeurs des paramètres physiologiques et biochimiques suite à un stress hydrique. ....	51

<b>Figure 22:</b> Variation de la hauteur des 10 géotypes de blé dur au cours des deux campagnes (2018-2019) et (2019-2020).....	60
<b>Figure 23:</b> Variation du nombre d'épi par m <sup>2</sup> des 10 géotypes de blé dur au cours des deux campagnes (2018-2019) et (2019-2020).....	61
<b>Figure 24:</b> Variation du nombre de grains par épi des 10 géotypes de blé dur au cours des deux campagnes (2018-2019) et (2019-2020). ....	63
<b>Figure 25:</b> Variation du poids de 1000 grains des 10 géotypes de blé dur au cours des deux campagnes (2018-2019) et (2019-2020).....	64
<b>Figure 26:</b> Variation du rendement en grain des 10 géotypes de blé dur au cours des deux campagnes (2018-2019) et (2019-2020).....	65
<b>Figure 27:</b> Variation de la teneur relative en eau des 10 géotypes de blé dur au cours des deux campagnes (2018-2019) et (2019-2020). ....	67
<b>Figure 28:</b> Variation du taux de chlorophylle des 10 géotypes de blé dur au cours des deux campagnes (2018-2019) et (2019-2020).....	68
<b>Figure 29:</b> Variation de la teneur en proline des 10 géotypes de blé dur au cours des deux campagnes (2018-2019) et (2019-2020).....	69
<b>Figure 30:</b> Variation de la concentration en malondialdéhyde (MDA) des 10 géotypes de blé dur au cours des deux campagnes (2018-2019) et (2019-2020). ....	70
<b>Figure 31:</b> Variation de la conductivité électrolytique chez 10 géotypes de blé dur au cours des deux campagnes (2018-2019) et (2019-2020). ....	71
<b>Figure 32:</b> Représentation descriptive par analyse des composantes principales (ACP) des valeurs des paramètres étudiés en campagne 2018/2019 .....	74
<b>Figure 33:</b> Représentation descriptive par analyse des composantes principales (ACP) des valeurs des paramètres étudiés en campagne 2019/2020 .....	75
<b>Figure 34:</b> Cercle de corrélation de l'ACP des paramètres morpho-physiologiques et biochimiques des plantes de blé soumises aux différentes conditions expérimentales .....	88
<b>Figure 35:</b> Graphique des observations mettant en évidence les trois groupes distincts formés par l'ACP. ....	89
<b>Figure 36:</b> Variation de l'accumulation de la proline chez dix géotypes de blé dur soumis au stress hydrique dans des conditions contrôles (T) et des conditions de stress (S). ....	92
<b>Figure 37:</b> Variation de l'expression relative du gène de P5CS1 chez dix géotypes de blé dur soumis au stress hydrique dans des conditions contrôles (T) et des conditions de stress (S)...	93
<b>Figure 38:</b> Variation de l'expression relative du gène de P5CR chez dix géotypes de blé dur soumis au stress hydrique dans des conditions contrôles (T) et des conditions de stress (S)...	94

**Figure 39:** Variation de l'expression relative du gène de GS chez dix géotypes de blé dur soumis au stress hydrique. ....96

## Liste des tableaux

<b>Table 1:</b> Exemples représentatifs du rôle bénéfique de la proline en réponse au stress hydrique chez différentes espèces végétales .....	23
<b>Table 2:</b> Pédigrée, origine et acronyme des génotypes étudiés .....	27
<b>Table 3:</b> Amorces utilisées pour l'analyse des de l'expression gènes .....	39
<b>Table 4:</b> Concentration du malondialdéhyde (MDA) et libération relative d'électrolytes (EL) dans les feuilles des 10 variétés de blé dur sous condition contrôle (T) et sous condition de stress (S).....	49
<b>Table 5:</b> Matrice de corrélation de Pearson des variables mesurées des 10 génotypes de blé dur.....	49
<b>Table 6:</b> Pluviométrie et Températures moyenne des campagnes (2018/2019) et (2019/2020) (ITGC) .....	59
<b>Table 7:</b> Effets des différents traitements sur la longueur des feuilles (cm) chez 10 variétés de blé dur .....	78
<b>Table 8:</b> Effets des différents traitements sur la longueur des racines (cm) chez 10 variétés de blé dur .....	79
<b>Table 9:</b> Effets des différents traitements sur la teneur relative (%) en eau chez 10variétés ..	80
<b>Table 10:</b> Effets des différents traitements sur la conductance stomatique ( $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) chez 10 variétés de blé dur.....	81
<b>Table 11:</b> Effets des différents traitements sur la teneur en chlorophylle ( $\text{mg g}^{-1}$ MF) chez 10 variétés de blé dur.....	82
<b>Table 12:</b> Effets des différents traitements sur la teneur en sucre ( $\text{mg g}^{-1}$ MF) chez 10 variétés de blé dur.....	83
<b>Table 13:</b> Effets des différents traitements sur la teneur en proline ( $\text{mg g}^{-1}$ MF) chez 10 variétés de blé dur.....	84
<b>Table 14:</b> Effets des différents traitements sur la teneur en protéine ( $\text{mg g}^{-1}$ MF) chez 10 variétés de blé dur.....	85
<b>Table 15:</b> Effets des différents traitements sur la teneur en MDA ( $\text{nmol g}^{-1}$ MF) chez 10 variétés de blé dur.....	86
<b>Table 16 :</b> Effets des différents traitements sur EL (%) chez 10 variétés de blé dur .....	87

## *Table des matières*

### **LISTE DES ABREVIATIONS**

### **LISTE DES FIGURES**

### **LISTE DES TABLEAUX**

### ***Chapitre I : Synthèse bibliographique***

Introduction générale.....	1
I. Le blé dur.....	4
1. Origine génétique et géographique.....	4
2. Localisation et production.....	4
II. Du concept de stress hydrique à l'impact de celui-ci sur la culture du blé.....	6
1. Définition du Stress hydrique.....	6
2. Effets du stress hydrique sur la plante.....	6
2.1 Effets du stress hydrique sur la croissance et la morphologie des plantes.....	7
2.2 Effets du stress hydrique sur la photosynthèse et la transpiration des plantes.....	8
2.3 Effets du stress hydrique sur la physiologie des plantes.....	8
2.4 Effets du stress hydrique sur les différents Organes du Blé.....	10
3. Mécanismes d'adaptation de la plante au stress hydrique.....	11
4. Les réponses de la plante au stress hydrique.....	12
4.1 Perception et transduction du signal.....	13
4.2 Ajustement osmotique.....	15
III. Implication des dérivés du glutamate dans la réponse au stress chez les plantes.....	15
1. La proline.....	16
1.1 Propriété de la proline.....	16
1.2 Métabolisme de la proline chez les plantes.....	16
1.3 Détection, signalisation et transport de proline.....	18
1.4 Gènes impliqués dans la synthèse de la proline.....	19
1.5 Rôles de la proline endogène durant le stress.....	19
1.6 Implication de l'accumulation de la proline dans la réponse au stress hydrique.....	21
1.7 Application exogène de la proline et son rôle durant le stress.....	22
2. La glutamine synthétase.....	24
2.1 Rôles de la glutamines synthétase.....	25

## **Chapitre II: Matériel et méthodes**

II.1 Matériel végétal .....	27
II.2 Première expérimentation : Evaluation de la réponse physiologique et biochimique des variétés de blé dur soumises au stress hydrique par un arrêt d'arrosage .....	27
II.2.1 Conditions de culture des plantes .....	27
II.2.2 Application du stress hydrique .....	28
II.2.3 Stade d'étude et paramètres mesurés .....	28
II.3 Deuxième expérimentation : Evaluation des performances agronomiques, physiologiques et biochimiques des génotypes de blé dur dans des conditions de pleins champs .....	29
II.3.1 Mise en place de l'expérimentation .....	29
II.3.2 Dispositif expérimental .....	29
II.3.3 Stade d'étude et paramètres mesurés .....	30
II.4 Troisième expérimentation : Evaluation de l'apport exogène de la proline sur le comportement morpho-physiologique et biochimique des variétés de blé dur soumises au stress hydrique stimulé par l'ajout du PEG-6000.....	30
II.4.1 Conditions de culture des plantes .....	30
II.4.2 Application des traitements .....	31
II.4.3 Stade d'étude et paramètres mesurés .....	31
II.5 Quatrième expérimentation : Etude de l'expression des gènes de P5CS1, P5CR et GS2 en réponse au stress hydrique par RT-PCR quantitative.....	32
II.5.1 condition de culture .....	32
II.5.2 Application du stress hydrique et stade d'étude .....	32
II.6 Principes des paramètres mesurés.....	32
II.6.1 Mesure de la croissance aérienne .....	33
II.6.2 Teneur relative en eau (TRE) .....	33
II.6.3 Conductance stomatique .....	33
II.6.4 Conductivité électrolytique .....	33
II.6.5 Dosage de la chlorophylle .....	33
II.6.7 Dosage des sucres solubles .....	34
II.6.8 Dosage du contenu en malondialdéhyde .....	35
II.6.9 Dosage des protéines totales.....	35
II.6.10 Dosage de l'activité de la glutamine synthétase .....	35
II.6.11 Extraction des ARN par la méthode de trizol.....	36
II.6.12 Paramètres de rendement et ses composantes .....	39
II.7 Analyse statistique.....	40



### **Chapitre III: Résultats et discussion**

#### ***Première expérimentation : Evaluation de la réponse physiologique et biochimique de quelques variétés de blé dur soumises au stress hydrique***

1. Introduction.....	42
2. Résultats.....	43
2.1 Effets du stress hydrique induit par un arrêt d'arrosage sur l'état hydrique des plantes .....	43
2.1.1 Evolution de La teneur relative en eau (TRE).....	43
2.1.2 Evolution de la conductance stomatique.....	44
2.1.3 Evolution de La teneur en chlorophylle.....	44
2.2 Effets du stress hydrique induit par un arrêt d'arrosage sur l'accumulation d'osmoprotectants ..	45
2.2.1 Evolution de la teneur en proline.....	45
2.2.2 Evolution de la teneur en sucres solubles .....	46
2.2.3 Evolution de l'activité de glutamine synthétase (GS).....	47
2.3 Effets du stress hydrique induit par un arrêt d'arrosage sur les marqueurs du stress oxydatif .....	48
2.3.1 Evolution de la teneur en malondialdéhyde (MDA) et la libération relative .....	48
d'électrolytes.....	48
2.4 Relation entre les paramètres physiologiques et biochimiques étudiés .....	49
3. Discussion .....	51
4. Conclusion .....	55

#### ***Deuxième expérimentation : Evaluation de l'apport exogène de la proline sur le comportement morpho-physiologique et biochimique des variétés de blé dur soumises au stress hydrique***

1. Introduction.....	57
2. Résultats et discussion .....	58
2.1 Description du climat du site d'étude.....	58
2.1.1 Pluviométrie .....	58
2.1.2 Température .....	58
2.2 Analyse du comportement variétal des dix variétés étudiées au cours des deux campagnes agricoles .....	59
2.2.1 La hauteur de la plante (HP) .....	59
2.2.2 Nombre d'épis par mètre carré (Nb E/m <sup>2</sup> ).....	61
2.2.3 Nombre de grains par épi (Nb G/E).....	62
2.2.4 Le poids de 1000 grains (PMG) .....	63
2.2.5 Le rendement en grain (Rdt) .....	65
2.2.6 Evolution la teneur Relative en Eau (TRE).....	66

2.2.7 Evolution de la teneur en chlorophylle totale.....	67
2.2.8 Evolution de la teneur en proline.....	68
2.2.9 Evolution de la teneur en MDA .....	69
2.2.10 Evolution de la conductivité électrolytique.....	71
2.3 Etude des corrélations entre les paramètres mesurés .....	72
2.4 Analyse en composantes principales (ACP) .....	73
2.4.1 Campagne 2018-2019.....	73
2.4.2 Campagne 2019-2020.....	74
3. Conclusion .....	75

***Troisième expérimentation : Evaluation de l'apport exogène de la proline sur le comportement morpho-physiologique et biochimique des variétés de blé dur soumises au stress hydrique***

1. Introduction.....	77
2. Résultats et discussion .....	78
2.1 Effets de la proline exogène sur la croissance en longueur des plantes .....	78
2.2 Effets de la proline exogène sur l'état hydrique des plantes.....	79
2.3 Effets de la proline exogène sur l'accumulation des sucres totaux .....	82
2.4 Effets de la proline exogène sur la teneur en proline endogène.....	83
2.5 Effets de la proline exogène sur la teneur en protéines totales .....	84
2.4 Effets de la proline exogène sur la teneur en MDA et EL .....	85
2.5 Application de l'analyse en composantes principales sur les résultats des analyses morpho-physiologiques et biochimiques.....	87
3. Conclusion.....	89

***Quatrième expérimentation : Analyse de l'expression des gènes impliqués dans la réponse au stress hydrique chez des variétés de blé dur soumises au stress hydrique***

1. Introduction.....	91
2. Résultats et discussion .....	91
2.1 Effet du stress hydrique sur l'accumulation de la proline.....	91
2.2 Effet du stress hydrique sur l'expression des gènes P5CS et P5CR.....	92
2.3 Effet du stress hydrique sur l'expression du gène de la GS.....	95
3. Conclusion .....	96
<b>Conclusion générale.....</b>	<b>98</b>

**Références bibliographiques.**

**Annexes.**

# ***Introduction générale***

### **Introduction générale :**

Les bouleversements climatiques constatés ces dernières années ont une répercussion importante sur la production agricole ainsi, la croissance continue de la population mondiale, engendre une hausse considérable de la demande alimentaire. En Algérie, le blé dur constitue la principale base du régime alimentaire pour la consommation humaine. Toutefois la production céréalière ne semble pas répondre favorablement aux besoins de la population. Elle est amplement influencée par les contraintes abiotiques incluant la sécheresse.

La sécheresse est l'un des facteurs abiotiques les plus préjudiciables à travers le monde. Elle peut gravement entraver la production des cultures agricoles (Zhao *et al.*, 2020). Pour faire face à cette contrainte, différentes réponses sont mises en jeu par la plante pour maintenir un état hydrique favorable et tolérer la déshydratation. Ces réponses se situent à plusieurs niveaux (morphologique, physiologique, métabolique et moléculaire) (Farkas *et al.*, 2020). De ce fait, pour contrecarrer les effets néfastes de la contrainte hydrique, les plantes ont mis en place au cours de l'évolution divers mécanismes adaptatifs notamment par l'ajustement de leurs systèmes métaboliques (Verslues *et al.*, 2006). Au niveau cellulaire, la tolérance des plantes peut être assurée en partie par un osmo-ajustement suite à la synthèse de soluté compatible tels que les acides aminés, les ions et les sucres solubles. Ces molécules jouent un rôle important dans la rétention d'eau et le maintien de la turgescence cellulaire nécessaire à l'expansion cellulaire.

La proline, fait partie des osmolytes le plus fréquemment accumulés chez les plantes en conditions défavorables, où elle participe activement dans l'ajustement osmotique interne de la plante. Lors d'une contrainte hydrique, la proline est synthétisée essentiellement à partir du glutamate (Szabados and Savouré 2010). La réaction débute par la réduction du glutamate en pyrroline-5-carboxylate (P5C) par la pyrroline-5-carboxylate synthétase (P5CS). Ce composé est ensuite réduit en proline par la P5C réductase (P5CR). Au moment du stress, la proline est synthétisée dans le cytosol, tandis que sa dégradation est contrôlée par la proline déshydrogénase (ProDH).

Cet acide aminé intervient également dans la régulation du pH et de l'état redox. D'autre part afin d'atténuer les effets du stress oxydatif engendré par le stress hydrique, la proline peut agir comme un antioxydant, notamment grâce à sa capacité de piégeage des radicaux libre (Dar

## *Introduction générale*

*et al.*, 2016). Elle accomplit aussi un rôle important dans la transmission du signal pendant le stress (Szabados et savouré 2010). La proline représente un acide aminé multifonctionnel, elle est souvent assignée à l'adaptation et la réponse des plantes aux contraintes environnementale. Son accumulation sous des conditions de stress hydrique a été rapporté par plusieurs chercheurs et chez différents types d'espèces (Dar *et al.*, 2016). Lors d'un stress hydrique, Les concentrations intracellulaires en proline dépendent d'une régulation fine entre sa biosynthèse et son catabolisme. Il existe une forte connexion entre les modifications qui se produisant au niveau physiologique et cellulaire et celles qui se produisant au niveau moléculaire. Ces modifications sont régies par tout un assortiment de gènes, dont l'expression ou la répression résulte en des changements dans les programmes transcriptionnels, conduisant à l'accumulation des osmolytes dont la proline.

Beaucoup d'efforts ont été consacrés à l'augmentation de la synthèse de cet osmoprotectant par le génie génétique afin d'obtenir des plantes plus tolérantes aux contrainte de l'environnement. Alternativement, l'application de la proline exogène s'avère efficace dans l'amélioration de la tolérance des plantes au différents stress abiotiques (Zali et Ehsanzadeh, 2018). De nombreuses études ont montré que la proline exogène peut améliorer la croissance, le rendement et la tolérance des plantes au cours des périodes de stress environnemental défavorable (Hosseinifard *et al.*, 2022).

Cette thèse a pour objectifs d'une part, l'évaluation de la variabilité du comportement morpho-physiologique et biochimique de dix variétés de blé dur soumises au stress hydrique dans des conditions contrôlées et d'autre part, l'évaluation de la diversité agronomique, physiologique et biochimique des génotypes en conditions de plein champs. Ainsi mettre en évidence d'éventuelles différences génotypiques dans l'aptitude à accumuler la proline. Au cours de ce travail, et après avoir les résultats des deux premières expérimentations, nous aurons à étudier les conséquences et l'implication de l'apport exogène de la proline sur le comportement des plantes sous une contrainte hydrique et enfin notre étude est complétée par une analyse d'expression des gènes codant pour la P5CS, P5CR et GS, en tant que marqueur de biosynthèse de la proline.

Le mémoire comprend trois grandes parties suivies d'une conclusion générale et des perspectives qui en découlent :

**Le chapitre 1** : correspond à une synthèse bibliographique se focalisant sur les connaissances passées et actuelles relatives au sujet de thèse, les conséquences du stress hydrique sur les

## *Introduction générale*

plantes ainsi les mécanismes des réponses adoptés par les plantes afin de faire face. Aussi évoqué les rôles de la proline dans la tolérance des plantes aux conditions de stress.

**Le chapitre 2** : englobe la description du matériel végétal, le dispositif expérimental ainsi que les principales méthodologies et techniques utilisées pour répondre à nos objectifs.

**Le chapitre 3** : consacré à l'ensemble des résultats obtenu et leur discussion, il est scindé en quatre parties.

- Evaluation de la réponse physiologique et biochimique des variétés de blé dur soumises au stress hydrique par un arrêt d'arrosage.
- Evaluation des performances agronomiques, physiologiques et biochimiques des génotypes de blé dur dans des conditions de pleins champs.
- Evaluation de l'apport exogène de la proline sur le comportement morpho-physiologique et biochimique des variétés de blé dur soumises à une contrainte hydrique.
- Etude de l'expression des gènes codant pour la P5CS1, P5CR et GS2 en réponse au stress hydrique par RT-PCR quantitative.

***Chapitre I:***  
***Synthèse Bibliographique***

## I. Le blé dur

### 1. Origine génétique et géographique

Le blé a été décrit comme la première espèce végétale cultivée par l'homme, il fait partie de la structure de la consommation céréalière et contribue de manière significative à l'apport calorique et protéique de la population à l'échelle mondiale. Les espèces les plus cultivées sont le blé dur (*Triticum durum*) et le blé tendre (*Triticum aestivum*). La culture de blé a été initiée en 7000 avant Jésus-Christ dans la région du croissant fertile, une région qui s'étend de la Turquie à l'ouest de l'Iran (Lev-Yadun *et al.*, 2000). L'ancêtre sauvage, *T. monococcum* L ssp a été découvert en Grèce pour la première fois en 1833, tandis que *T. urartu* (donneur du génome AA) fut repéré en Arménie en 1937 et le blé dur, *T. turgidum* spp. *durum* (Desf.) en Autriche.

En effet, la première classification des blés a été faite par Schultz en 1913 et ensuite renforcée par des études cytologiques du nombre de chromosomes par Sakamura en 1918 qui finiront à les classer en trois groupes principaux : les blés diploïdes ( $2n = 14$ , génome AA), les blés tétraploïdes (blé dur,  $2n = 28$ , génome AA et BB) et les blés hexaploïdes (blé tendre,  $2n = 42$ , génome AA, BB et DD) (Feldman *et al.*, 1995).

### 2. Localisation et production

La production mondiale du blé dur oscille entre 35 et 41 millions de tonnes ces dernières années. Cela en fait la troisième céréale produite dans le monde, derrière le maïs et le blé tendre mais la culture du blé dur est plus lucrative. En effet, c'est un aliment de base d'une très grande partie de la population mondiale. Son grain est plus riche en protéines, en minéraux et en antioxydants par rapport aux autres céréales (Marcotuli *et al.*, 2020). Il sert à la production des pâtes alimentaires, du pain, du couscous mais aussi la paille est utilisée comme aliment pour le bétail.

Historiquement, la principale zone de culture du blé tétraploïde est la région méditerranéenne (Royo *et al.*, 2014). L'émergence de nouveaux cultivars mieux adaptés aux différents milieux a élargi la culture de cette espèce à d'autres régions. En effet, actuellement la culture du blé dur est positionnée principalement dans les régions au climat méditerranéen, et les pays de l'Afrique du Nord en sont les plus importants d'importateurs (Bonjean *et al.*, 2016). Les grands cultivateurs sont la Turquie et le Canada, suivi par l'Algérie, l'Italie, et l'Inde (Sall *et al.*, 2019).

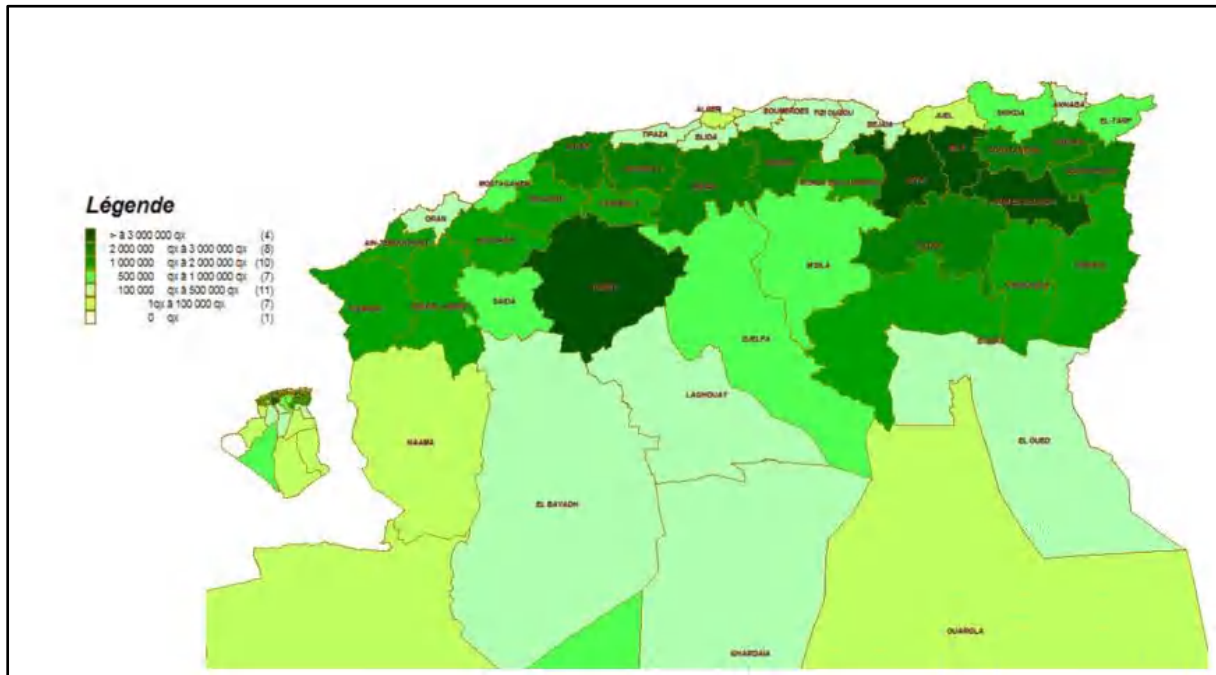
En Algérie, les céréales occupent une place privilégiée non seulement pour leur rôle traditionnel considéré comme aliment, mais aussi un rôle social, économique et politique.



## Chapitre I : Synthèse bibliographique

Cependant, leur production reste insuffisante et ne répond qu'à 25-30% des besoins de la population (Chourghal *et al.*, 2016).

Selon les statistiques du ministère algérien de l'agriculture et développement rural (MADR), en 2019 la superficie ensemencée en céréale est évaluée à 3 185 647 ha, desquelles le blé dur (1 579 080 ha) et l'orge occupent la majeure partie de cette superficie. La production réalisée des céréales au cours de l'année 2019 est estimée à 56 millions de quintaux en moyenne repartis sur le territoire national comme illustré dans la figure 01.



**Figure 01** : Répartition de la production céréalière sur le territoire national selon les statistiques du ministère de l'agriculture (MADR, 2019).

Toutefois, la production céréalière nationale demeure faible et marquée par une forte irrégularité interannuelle causée principalement par la variabilité climatique et largement affectée par des vagues de chaleur et l'avènement du déficit hydrique (Belagrouz et Chennafi, 2016).

En Algérie, Le blé dur est la première céréale cultivée, et la quasi-majorité des surfaces sont conduites en pluvial. Il s'est distingué par un rendement moyen de 32 millions de quintaux/hectare, relatif à l'année 2019. Toutefois, ce niveau de rendement est considéré très faible à l'égard de la production mondiale. A cet effet, l'Algérie est l'un des premiers importateurs mondiaux de blé. La production de cette culture est souvent limitée par des contraintes liées à l'eau et la chaleur qui sont courantes pendant la période de remplissage des grains (Mansouri *et al.*, 2018).

## Chapitre I : Synthèse bibliographique

La faible pluviométrie et la répartition irrégulière des pluies rendent la culture de blé sujette à la sécheresse durant son cycle de culture. En fait, les périodes de stress hydrique coïncident souvent avec les phases critiques du développement de blé (Montaison, floraison et remplissage de grain) (Belaid *et al.*, 2012) cela se traduit d'une année à l'autre par des variations importantes du rendement.

Tout développement de programme de sélection pour l'amélioration de production de blé dur nécessite l'acquisition des connaissances génétiques et physiologiques sur les mécanismes de la tolérance au stress. Aussi, l'introduction accrue du matériel végétal performant et tolérants au stress ainsi que l'application des recommandations techniques améliorent davantage les rendements et par conséquent la production totale.

## **II. Du concept de stress hydrique à l'impact de celui-ci sur la culture du blé**

### **1. Définition du Stress hydrique**

Le stress hydrique est une menace naturelle et une contrainte permanente de la production agricole dans de nombreuses régions du monde. Il fait partie des facteurs environnementaux les plus importants qui affectent fortement la croissance des plantes et causent la déshydratation des tissus, ce qui influence négativement le rendement des cultures (Mosa *et al.*, 2017).

Les risques de la pénurie d'eau sont, et deviendront de plus en plus fréquents et persistants à l'avenir, suite aux changements climatiques causés par l'effet de serre (Witcombe *et al.*, 2008). Le déficit hydrique peut être défini comme un déséquilibre entre la quantité d'eau disponible dans le sol et la demande en évaporation de la plante causée par les conditions environnementales (Tardieu *et al.*, 2012; Du *et al.*, 2013). Passioura (2006) définit le déficit hydrique comme étant les circonstances dans lesquelles les plantes accusent une réduction de croissance et de production suite à une alimentation hydrique insuffisante dite stress hydrique.

En agriculture, on parle du stress de la sécheresse. Cette dernière est définie 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 (INRA, 2006).

### **2. Effets du stress hydrique sur la plante**

Les plantes se caractérisent par une grande capacité à résister aux fluctuations de la teneur en eau de leurs tissus. Cependant, le manque d'une ressource en eau suffisante et accessible au niveau racinaire engendre de multiples conséquences à plusieurs niveaux de la plante (Chaves *et al.*, 2003), en allant des différents compartiments des cellules jusqu'à la plante entière.

## **2.1 Effets du stress hydrique sur la croissance et la morphologie des plantes**

Les paramètres favorisant la croissance des plantes, c'est-à-dire la division, la différenciation et l'expansion des cellules, sont entravés pendant la sécheresse (Ansari *et al.*, 2019). Des symptômes tels que le flétrissement, le jaunissement, l'étiollement et la chute précoce des feuilles sont les principales réponses visibles aux conditions de stress hydrique. Si la gravité de la sécheresse est extrême, la plante meurt généralement (Salehi et Bakhshayeshan, 2016). Une réduction significative des traits morphologiques comme la hauteur de la plante, la surface foliaire et la biomasse a été signalée chez diverses espèces soumises à un stress hydrique (Farooq *et al.*, 2014)

Le stress provoque un déséquilibre métabolique et osmotique, entraînant une perte de la turgescence des cellules et la fermeture des stomates. Cela limite la fixation du CO<sub>2</sub> et par conséquent la photosynthèse et la croissance (Laxa *et al.*, 2019)

La sécheresse a un impact négatif sur la régénération, la croissance et la survie des végétaux (Du *et al.*, 2019 ; Ding *et al.*, 2020). La germination des graines est le premier stade de développement des plantes qui est sensible au stress hydrique. L'eau est le principal facteur abiotique qui affecte la germination des espèces et réduit leur survie au cours des stades précoces de développement. Le passage de la vie latence des graines desséchées à la vie active, est conditionné par une absorption massive de l'eau, dont la quantité et la qualité influent grandement sur la réalisation de ce processus (Laxa *et al.*, 2019).

Les plantes raccourcissent la période de croissance végétative et fleurissent tôt afin de s'adapter à la sécheresse (Abobatta, 2019). Pareillement pour le développement des organes végétatifs, la croissance des jeunes organes reproducteurs (ovules, fleurs puis graines) ainsi que leur nombre (défini par des processus de ramification) sont limités en cas de déficit hydrique.

Il en suit une réduction du nombre de grains, de la période de remplissage des grains et de l'accumulation de la matière sèche dans les cultures céréalières, qui aura un effet sur le rendement même si les conditions hydriques redeviennent favorables (Joshi *et al.*, 2016). Aussi, le déficit hydrique conduit à des carences en nutriments azotés principalement en raison d'une réduction de flux d'azote au niveau des racines et d'un échange réduit entre les parties aériennes et racinaires du fait de la chute de la transpiration (Abobatta, 2019).

La contrainte hydrique peut avoir des effets néfastes non seulement sur le plan quantitatif (Rendement) mais aussi sur le plan qualitatif (composition biochimique des graines) des cultures et cela dépend du stade de développement de la plante et l'intensité de la contrainte hydrique. Un déficit hydrique après la fécondation réduit la taille des organes et s'il persiste pendant la phase de remplissage, il affecte leur composition. Les différents métabolismes étant

## Chapitre I : Synthèse bibliographique

inégalement affectés par le déficit hydrique (le métabolisme carboné l'est davantage que le métabolisme azoté), les concentrations relatives des différents composants sont modifiées : un manque d'eau induit généralement une baisse des teneurs en amidon et en huile des graines, et une augmentation des teneurs en protéines (INRA, 2006).

### 2.2 Effets du stress hydrique sur la photosynthèse et la transpiration des plantes

La photosynthèse, le processus physiologique le plus fondamental et le plus complexe chez les plantes est particulièrement sensible aux effets du manque d'eau. Un faible taux photosynthétique est un effet inévitable du stress hydrique et il a été attribué à une limitation stomatique et, dans un deuxième temps, à des modifications consécutives du métabolisme (Nayyar et Gupta, 2006). Lors d'un stress hydrique, le taux de fixation du carbone par le cycle de Calvin ralentit (Fábián *et al.*, 2013). Ce ralentissement du cycle de Calvin est dû principalement à deux phénomènes : la fermeture des stomates et l'altération de l'activité des enzymes du cycle. La conséquence de la fermeture des stomates est la baisse de la diffusion et la conductance du CO<sub>2</sub> dans la feuille et par conséquent le ralentissement de son assimilation par la Rubisco. Les modifications d'activité enzymatique touchent principalement la Rubisco et la non régénération du ribulose-1-5-phosphate qui permet la fixation du carbone (Dias et Brüggemann, 2010). Dans la plupart des cas, le principal phénomène responsable de la diminution du rendement photosynthétique est la fermeture des stomates, qui réduit la disponibilité en CO<sub>2</sub>.

La transpiration foliaire est régulée par la fermeture /ouverture des stomates. Ainsi, elle est directement liée à la valeur de la conductance stomatique. En réponse à un déficit hydrique, la photosynthèse et la conductance stomatique diminuent progressivement et de manière concomitante (Gunasekera et Ratnasekera, 2023). La conductance stomatique est reliée aux mouvements des stomates : une fermeture stomatique traduit une réduction de la conductance.

Lors d'un déficit hydrique, les plantes referment les stomates pour minimiser les pertes en eau par transpiration et préserver l'état hydrique de la plante et le stock d'eau du sol. La fermeture des stomates est un mécanisme d'évitement de la sécheresse et est l'une des réponses les plus précoces à la déshydratation par son aptitude à se mettre en place en quelques minutes (Parwata *et al.*, 2013).

### 2.3 Effets du stress hydrique sur la physiologie des plantes

Les processus physiologiques qui contribuent principalement à la croissance des plantes tels que l'osmorégulation, la photosynthèse, l'échange d'ions, la transpiration, le transfert de solutés, les réactions métaboliques, la respiration et la génération d'ATP sont étroitement liés à la disponibilité de l'eau (Zlotowicz *et al.*, 2017).

## Chapitre I : Synthèse bibliographique

La teneur relative en eau (TRE) des feuilles figure parmi les indicateurs physiologiques importants déterminant le statut hydrique de la plante. La réduction de la TRE est le premier symptôme de la réponse au stress hydrique (Hussain et al., 2018). La teneur relative en eau des feuilles est fortement corrélée simultanément avec le taux de croissance des tissus foliaires et le taux de transpiration (Kapoor *et al.*, 2020). Chez le blé tendre (*Triticum aestivum*), la diminution de la pression de turgescence des feuilles perturbe les fonctions métaboliques de la plante. Dans des conditions de stress, le développement de la culture est entravé par le faible potentiel hydrique du sol, et le potentiel osmotique de la plante qui en résulte, entraîne une faible absorption des nutriments (Ashrafi *et al.*, 2022).

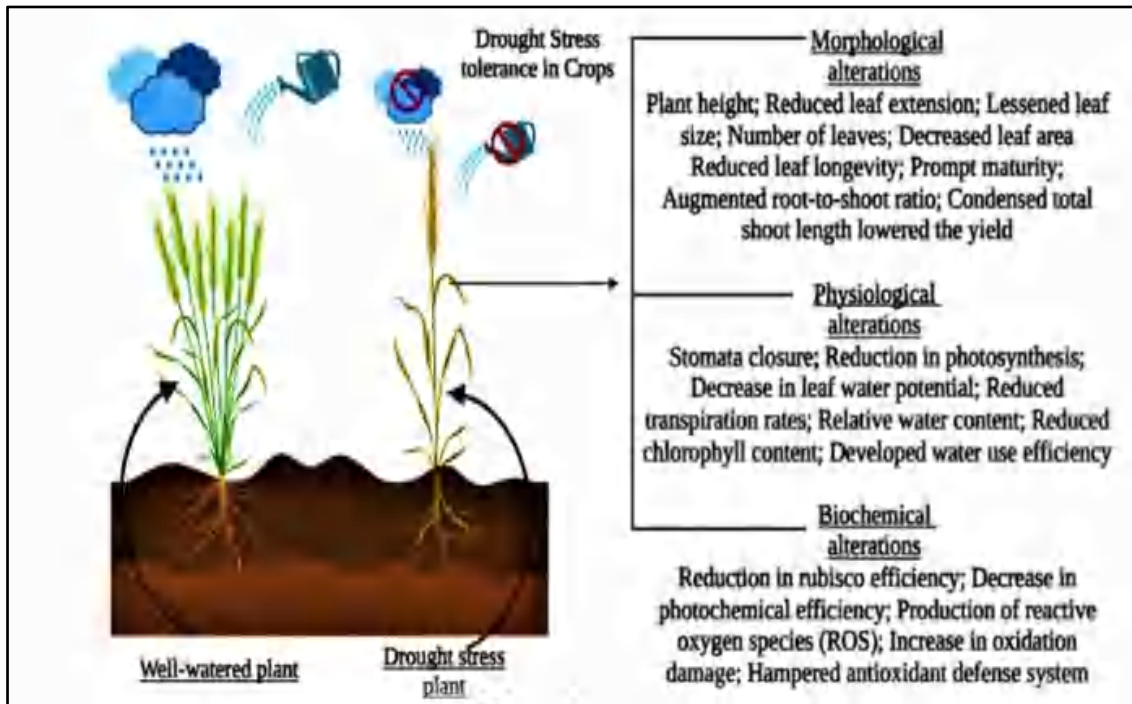
Bien que la fermeture des stomates provoque une réduction de l'assimilation de CO<sub>2</sub> et la photosynthèse nette, le maintien d'un bon statut hydrique est un bon compromis pour la survie de la plante. Les stomates peuvent être complètement fermés suite à un stress hydrique modéré selon l'espèce végétale. Cependant, les espèces tolérantes contrôlent mieux l'ouverture des stomates afin de permettre une certaine absorption de carbone et l'amélioration de l'efficacité d'utilisation de l'eau (Ozkur *et al.*, 2009). Une résistance stomatique élevée sous contrainte hydrique indique l'efficacité de l'espèce à conserver son eau. La sensibilité à la sécheresse chez le blé (*Tritium aestivum*) était principalement associée à des réductions de la conductance stomatique, qui diminuait la libération de dioxydes de carbone dans les chloroplastes et, par conséquent, réduisait la photosynthèse nette (Soares *et al.*, 2019).

Aussi, lorsque l'alimentation en eau est interrompue, on note une diminution importante de la chlorophylle foliaire. Cette diminution est due principalement aux dommages causés aux chloroplastes par les espèces réactives d'oxygène (ROS) tels que le superoxyde et les radicaux hydroxyles. En effet, le stress hydrique conduit généralement à un stress oxydatif dû à la fermeture des stomates (Ozkur *et al.*, 2009).

D'autre part, La déshydratation perturbe l'intégrité et la stabilité de la membrane cellulaire (Abbobatta, 2019), cela provoque des lésions membranaires dû à la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), ce qui entraîne une augmentation de la viscosité cellulaire, la dénaturation des protéines, l'agrégation et l'altération des interactions protéine-protéine donc on assiste à une fuite des solutés et par conséquent la perte de la sélectivité des membranes (Hopkin, 2003). De plus, l'accumulation de solutés entraîne une toxicité cellulaire et un dysfonctionnement des enzymes, ce qui réduit le taux de la photosynthèse et l'efficacité de l'utilisation de l'eau (Joshi *et al.*, 2016).

## 2.4 Effets du stress hydrique sur les différents Organes du Blé

Quasiment toutes les régions productrices du blé dans le monde connaissent une pénurie d'eau durant son cycle de développement. La restriction hydrique entraîne une réduction de la croissance et/ou de la productivité du blé (Zhao *et al.*, 2020) en affectant leur morphologie, physiologie et biochimie (Figure 2)



**Figure 02** : les effets du stress hydrique sur les processus morphologiques, physiologiques et biochimiques des plantes (Wahab *et al.*, 2022)

La rareté de l'eau a un effet dépressif sur le rendement des cultures et leurs composantes (Bandurska et Stroinski, 2003). Daryanto *et al.*, (2016) ont déclaré que le déficit hydrique pourrait diminuer le rendement du blé de 17 à 70 %. Le déficit hydrique affect négativement les trois principales composantes du rendement : nombre d'épis, nombre des grains par épis et le poids de 1000 grains (Assem *et al.*, 2006). L'effet sur ces composantes, et donc sur le rendement, vari selon la sévérité du stress et le stade au cours duquel il survient (Debaeke *et al.*, 1996).

Chez le blé, les traits morphologiques influencés par le déficit hydrique comprennent différents caractères foliaires tels que la forme, la taille, la surface et l'expansion foliaire, ainsi que des traits racinaires tels que la longueur, la densité, le poids frais et le poids sec des racines (Nezhadahmadi *et al.*, 2013). Le premier organe touché par le stress est le limbe de la feuille, sa croissance cesse, s'enroule et après le stade anthèse, accélère sa sénescence en cas de stress prolongé. Le stress hydrique diminue l'indice foliaire et la durée de vie de la feuille ainsi que

## Chapitre I : Synthèse bibliographique

la capacité photosynthétique (Khaim *et al.*, 2022). Aussi une perte d'eau du contenu cellulaire est provoquée par la diminution de la pression de turgescence. Cette perte peut engendrer à son tour des effets physiologiques très importants. Le degré de sensibilité à la sécheresse dépend du stade de développement du blé (périodes végétative, reproductrice et maturation).

- Au stade début tallage, la contrainte hydrique réduit l'émission et la survie des talles par contre en plein tallage c'est le nombre des talles herbacées qui est réduit (Yordanov *et al.*, 2003).
- A la montaison, le stress entraîne une chute du nombre d'épis par m<sup>2</sup>, une régression plus importante du nombre de talles déjà apparus et affecte le rendement notamment par augmentation du taux d'avortement des épillets (Wang *et al.*, 2003). A la fin de la montaison, le déficit hydrique pénalise considérablement le remplissage du grain de blé (Maydup *et al.*, 2010).
- Le manque d'eau combiné à des températures élevées durant la période de maturation affecte le poids de 1000 graines par altération de la vitesse de remplissage des graines et/ou la durée de remplissage. Au cours du remplissage des grains, le manque d'eau a pour conséquence une réduction de la taille des grains (échaudage), réduisant par conséquent le rendement en grain et la qualité du grain (Zhang *et al.*, 2010).

Les plantes soumises à un stress passent par plusieurs phases selon leur réaction en relation avec l'intensification progressive ou la durée du stress et adoptent de nombreux mécanismes, qu'il s'agisse de réponses morphologiques, physiologiques, biochimiques et moléculaires. Ces réponses tendent à limiter les effets négatifs du stress.

### 3. Mécanismes d'adaptation de la plante au stress hydrique

Les plantes adoptent de variables mécanismes, leur permettant d'éviter et/ou tolérer le manque d'eau et d'assurer une production satisfaisante. Ces stratégies varient en fonction de l'espèce et des conditions du milieu. Classiquement ces stratégies ont été classées en trois catégories à savoir : l'esquive, l'évitement et la tolérance (Levit, 1980).

Les plantes qui pratiquent l'esquive ajustent leur cycle de culture à la longueur de la saison des pluies et évitent de pousser durant les périodes de sécheresse habituelles. Chez les céréales, elle est souvent assurée par une vigueur précoce et un raccourcissement du cycle. Les génotypes à maturité précoce utilisent mieux l'eau disponible ; ils sont moins sensibles au stress hydrique que les génotypes tardifs (Slama *et al.*, 2005).

L'évitement du stress est employé par la plante afin de maintenir un potentiel hydrique élevé de ses tissus. Cette stratégie est assurée par des caractères adaptatifs, permettant la minimisation des pertes d'eau, couplée à une meilleure récupération de l'eau. La fermeture des

## *Chapitre I : Synthèse bibliographique*

stomates et la réduction de la surface foliaire peuvent minimiser les pertes d'eau ainsi un système racinaire développé et profond favorise l'alimentation en eau (Clavel *et al.*, 2005).

La tolérance d'une plante à la déshydratation est la capacité de la plante à maintenir ses activités et son fonctionnement biologique même pour des potentiels hydriques des tissus bas. La tolérance fait intervenir des mécanismes physiologiques, biochimiques et moléculaires impliquant l'expression des gènes et des protéines spécifiques (Virouvet, 2011).

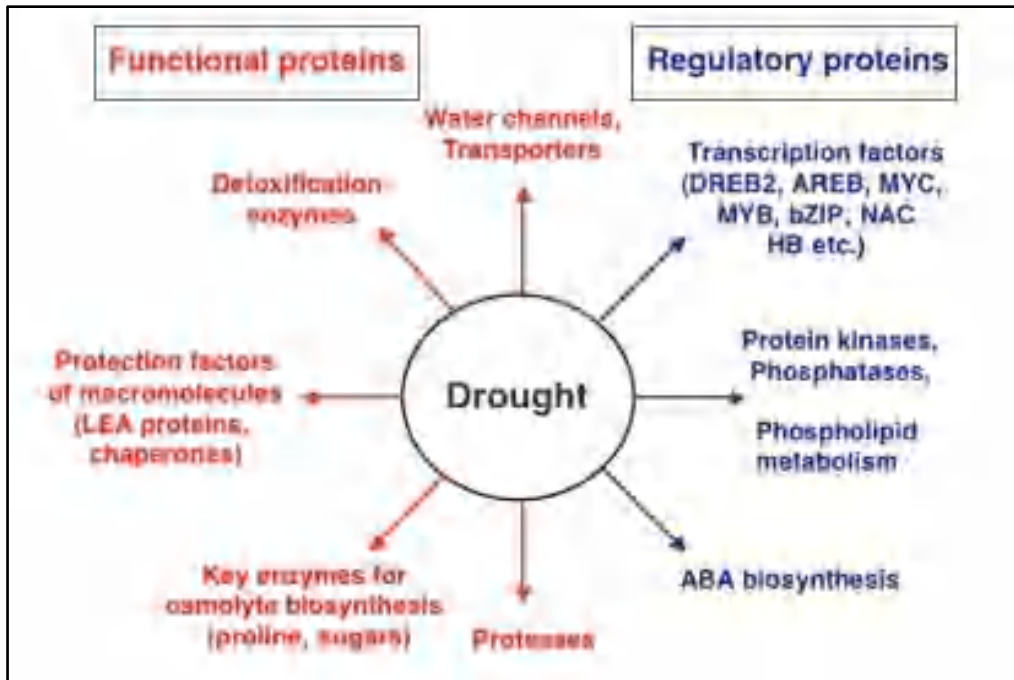
Cependant, il est important de préciser que ces stratégies ne sont pas mutuellement exclusives. En effet, à l'échelle moléculaire, les plantes peuvent combiner tout un ensemble de réponses (Batlang, 2010).

### **4. Les réponses de la plante au stress hydrique**

Comme nous l'avons souligné précédemment, la survie des plantes dans des conditions stressantes dépend de leur capacité à ressentir le stress, à générer et transmettre des signaux aux différentes parties de la plante et à initier une série de modifications physiologiques, biochimiques et moléculaires. La réponse des plantes au stress hydrique est complexe, elle fait intervenir un ensemble de gènes, dont les produits permettent à la plante de faire face au stress hydrique.

Le profil d'expression des gènes de réponse au stress hydrique est très complexe. Ces gènes sont régulés par deux voies de signalisation de l'acide abscissique (ABA) : ABA dépendante et ABA indépendante et peuvent être déclenchés rapidement dans la perception du stress ou lentement après l'accumulation de l'ABA (Chaves *et al.*, 2003). L'accumulation de l'ABA active plusieurs gènes associés aux stress, dont les produits peuvent être des protéines fonctionnelles ou des protéines de régulations (Figure 03).





**Figure 03 :** Fonctions des gènes induits dans la réponse et la tolérance au stress (Shinozaki et Yamaguchi, 2007)

Les produits des gènes sont classés en deux groupes : Le premier groupe regroupe les protéines qui sont probablement impliquées dans la tolérance au stress (protéines fonctionnelles) et le second groupe comprend les facteurs protéiques impliqués en plus dans la transduction du signal et de l'expression génétique qui fonctionnent probablement en réponse au stress (protéines de régulation)

#### 4.1 Perception et transduction du signal

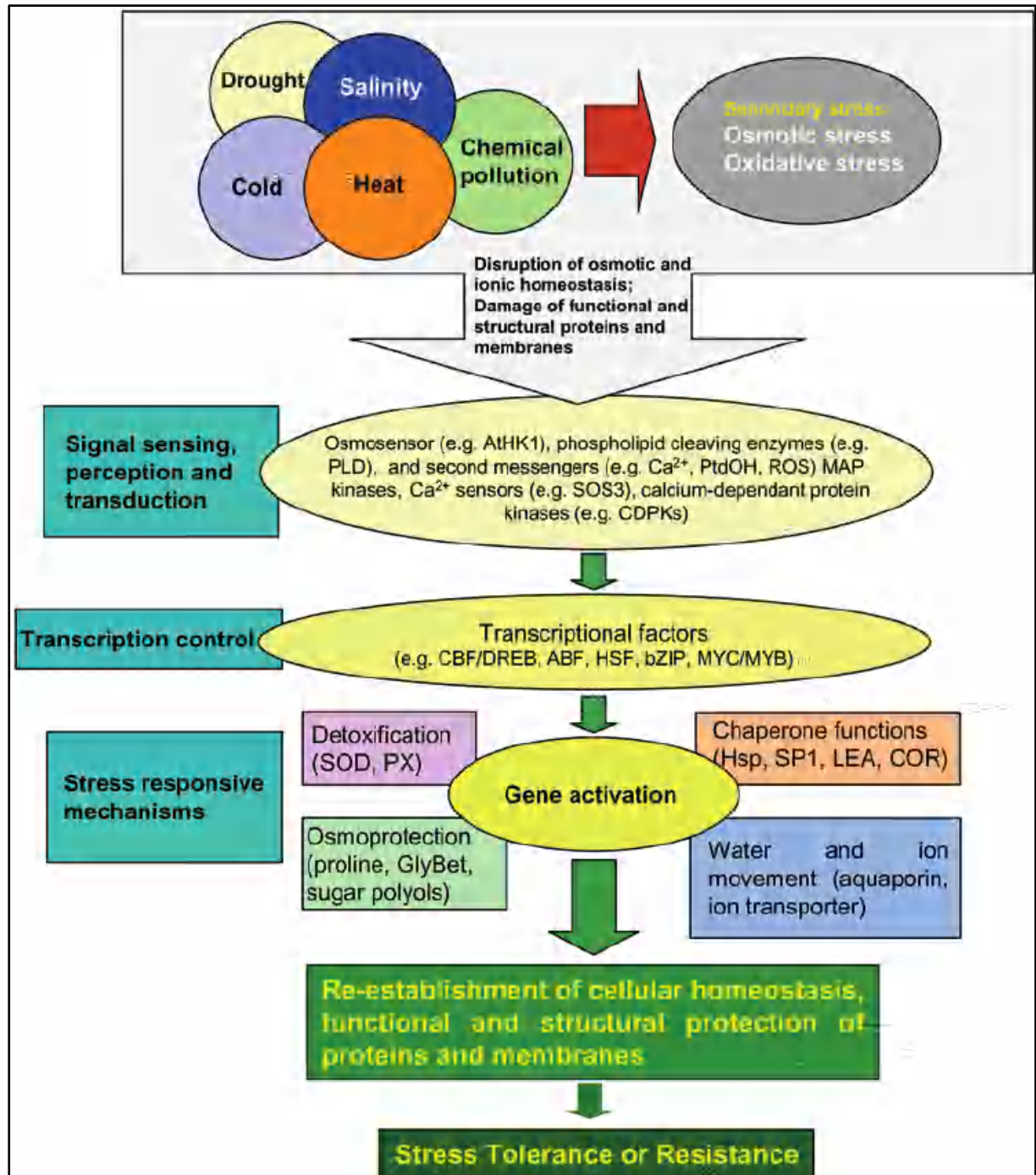
Quand la plante se retrouve en condition de stress hydrique commence à se manifester, alors elle va traduire les signaux perçus au niveau physique, en signaux biochimique et moléculaire entraînant une transduction du signal.

Temporellement, la signalisation du stress débute par sa perception, suite à des changements dans la concentration de  $Ca^{+2}$  et l'accumulation de second messager (parmi lesquelles l'acide abscissique ABA), une cascade de signalisation est induite (Figure 04) et module l'action des facteurs de transcription pour aboutir à des changements dans l'expression des gènes en réponse au stress (Gunasekera et Ratnasekera, 2023). L'ordre des réponses est décrit succinctement ci-dessous :

- Détection du signal suite à la synthèse de ABA.
- Perception et transduction du signal par des osmosenceurs dont la protéine AtHK1.
- Control transcriptionnel par la transcription des facteurs tels que DREB (dehydration-responsive transcription factors).

## Chapitre I : Synthèse bibliographique

- Activation des mécanismes de réponse tels que les enzymes de détoxification des ROS par les enzymes (CAT, APX...), les protéines LEA (déhydrines), les canaux à eau (aquaporines), les enzymes clé de la biosynthèse des osmolytes (proline).



**Figure 04 :** Représentation des réponses de plantes au stress abiotique (Wang *et al.*, 2003)

### 4.2 Ajustement osmotique

Une conséquence majeure de la diminution du potentiel hydrique du sol en condition de déficit hydrique est la perte de turgescence au niveau de la plante. Pour éviter la déshydratation des tissus, le maintien de la turgescence est rendu possible grâce à un processus d'osmo-ajustement. Ce dernier fait partie des stratégies de tolérance au stress le plus courant chez les plantes (Wang *et al.*, 2003). Afin de contrecarrer les effets du stress hydrique, les plantes synthétisent en grande quantité des solutés compatibles de faible poids moléculaire et qui n'interfèrent pas avec le métabolisme normal de la plante. Ces solutés compatibles appelés osmolytes, comprennent des sucres solubles, de la proline, glycine bétaine, polyamines et des ions de chlorure, etc (Wang *et al.*, 2017). La fonction première des osmolytes étant, d'empêcher la perte de turgescence des cellules, en maintenant une osmolarité intracellulaire égale à l'osmolarité extracellulaire, augmentant ainsi l'influx d'eau dans les cellules.

Chez le blé, une corrélation positive a été observée entre l'ajustement osmotique (AO) et le rendement en grain (Fischer *et al.*, 2005). Les sucres et la proline favorisent la stabilisation des protéines et les structures cellulaires, en particulier lorsque le stress devient sévère et plus prolongé.

La proline est l'un des acides aminés le mieux étudié et qui s'accumule le plus en condition de stress. Par exemple la concentration de proline augmente de 90% chez le blé après une restriction hydrique de 7 jours (Gontia-Mishra *et al.*, 2016).

### III. Implication des dérivés du glutamate dans la réponse au stress chez les plantes

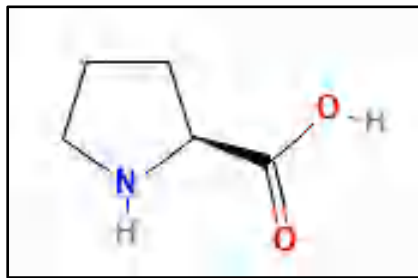
Les acides aminés dans les plantes servent à plusieurs fins, en plus d'être les éléments constitutifs des protéines. Les acides aminés dérivés du glutamate, à savoir la glutamine, la proline, l'arginine, sont d'importants transporteurs d'azote, des précurseurs des métabolites clés, des molécules de stockage d'azote, et des molécules de signalisation dans le développement des plantes (Okumoto, 2016). Aussi, plusieurs études ont montré que les acides aminés dérivés du glutamate jouent des rôles importants dans la réponse des plantes aux différents stress (salinité, stress hydrique, froid) (Yu *et al.*, 2020).

Dans cette partie de synthèse bibliographique, nous nous sommes intéressés à citer l'importance et les rôles des dérivés de glutamate dont la proline et la glutamine dans l'adaptation des plantes au stress.

## 1. La proline

### 1.1 Propriété de la proline

La proline fait partie des 20 acides aminés naturels qui entrent dans la composition de nombreuses chaînes polypeptidiques. Elle se caractérise par une structure unique, le fait qu'elle possède son groupement azoté sous la forme d'amine secondaire et non primaire. Son poids moléculaire est de 115,13g/mol, et sa formule chimique est  $C_5H_9NO_2$ . Elle est très soluble dans l'eau (1,54 kg/L d'eau), ce qui en fait un soluté idéal (Huang *et al.*, 2008). Diverses espèces végétales synthétisent naturellement la proline à la fois dans des conditions non stressantes et lors des réponses adaptatives au stress. Sa forme cyclique (Figure 05) lui confère une rigidité exceptionnelle comparée aux autres acides aminés (Szabados et Savouré 2010).



**Figure 05 :** Composition chimique de la proline

### 1.2 Métabolisme de la proline chez les plantes

Chez les plantes supérieures, le métabolisme cellulaire de la proline est compartimenté, sa synthèse a lieu principalement dans le cytosol, et les chloroplastes et son catabolisme se produit au niveau des mitochondries. La biosynthèse de la proline se fait selon deux voies différentes, via le glutamate et l'ornithine (Figure 06) (Fichman *et al.*, 2015). Il est généralement admis que le glutamate est la principale voie de synthèse de la proline, en particulier dans les conditions de stress (Fichman *et al.*, 2015).

Pour la première voie de synthèse de la proline qui se déroule principalement dans le chloroplaste, le glutamate est réduit en glutamate-semialdéhyde (GSA) dans une réaction catalysée par la synthèse de l'enzyme pyrroline-5-carboxylate synthétase (P5CS), suivie par une conversion spontanée de GSA en un intermédiaire, la pyrroline-5-carboxylate (P5C) (Meena *et al.*, 2019). Ce produit intermédiaire P5C est finalement réduit en proline par l'action de l'enzyme pyrroline-5-carboxylate réductase (P5CR).

D'autre part, dans la voie ornithine, l'arginine est d'abord réduite en ornithine par l'action de l'arginase, qui est ensuite transaminée par l'ornithine  $\alpha$ -aminotransférase (OAT), conduisant à la formation de glutamate semialdéhyde (GSA), qui est par la suite converti en proline par l'intermédiaire de l'enzyme pyrroline-5-carboxylate synthétase (P5CS), La dernière

## *Chapitre I : Synthèse bibliographique*

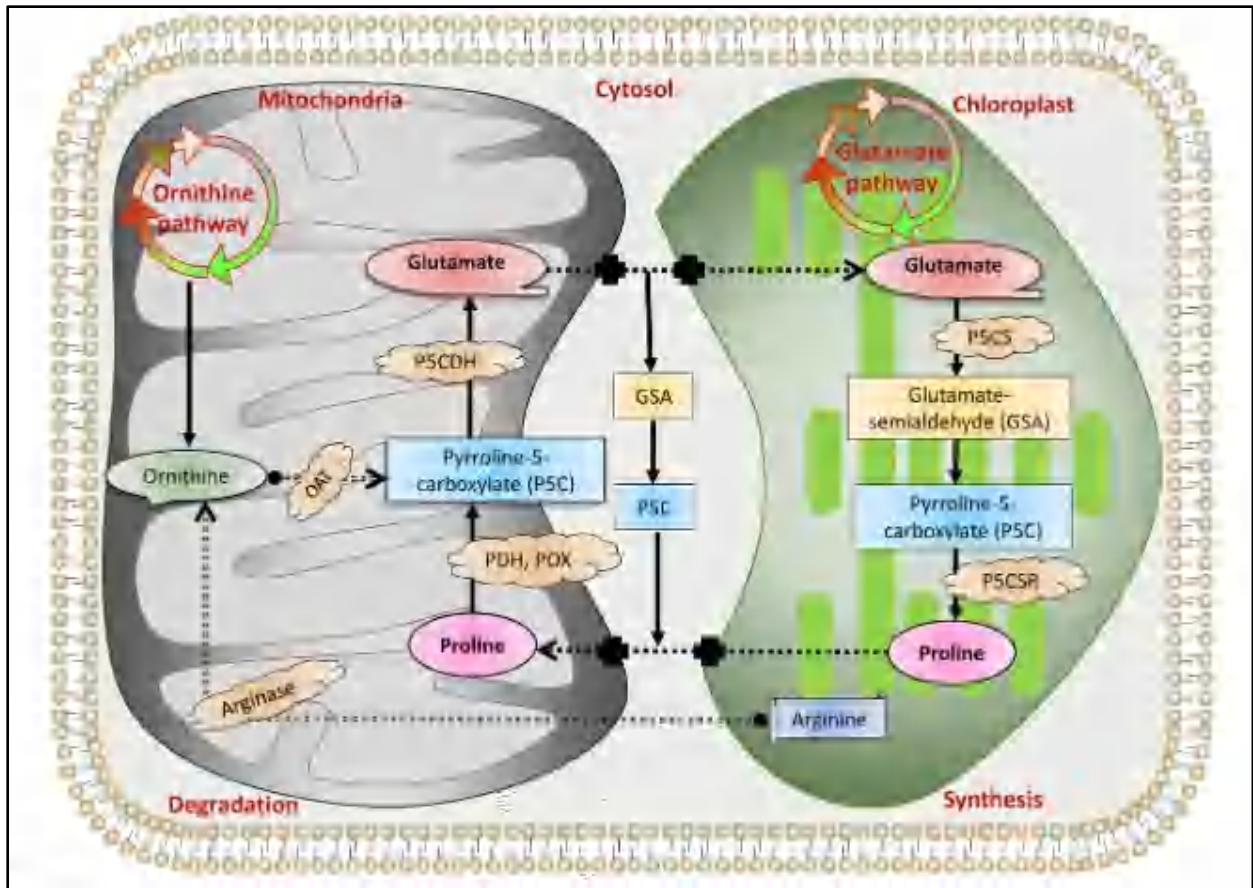
réaction est similaire à la voie du glutamate, où P5CR convertit P5C en proline par la P5C déshydrogénase (Fichman *et al.*, 2015).

Dans le cycle P5CR, La pyrroline-5-carboxylate synthétase se dirige vers la production de glutamate ou elle sort de la mitochondrie et retourne au cytosol pour être réduit à nouveau en proline. Les cycles ProDH et P5CR se produisent dans les deux cellules végétales et animales (Meena *et al.*, 2019; Szepesi et Szöllősi, 2018). L'information sur le transport de proline dans la cellule est limitée et l'existence de transporteurs de glutamate/proline a été suggérée (Szepesi et Szöllősi, 2018).

Le catabolisme de la proline en acide glutamique (Glu) s'effectue au niveau des mitochondries et il est initié par l'activité catalytique de la proline déshydrogénase (ProDH). Cette enzyme est liée à la membrane interne des mitochondries et participe au transfert d'électrons à l'ubiquinone dans la chaîne d'électrons mitochondriaux (Liang *et al.*, 2013). La première réaction de ProDH est l'oxydation de proline en P5C, laquelle est oxydée par la suite en glutamate par l'enzyme pyrroline-5-carboxylate déshydrogénase (P5CDH). L'apparition du stress régule la voie catabolique, permettant ainsi l'accumulation de la proline (Szepesi et Szöllősi, 2018).

La figure ci-dessous (Figure 06) fournit un modèle de métabolisme de la proline dans la cellule et les enzymes impliquées dans les différents composés subcellulaires.





**Figure 06 :** Modèle de biosynthèse et dégradation de la proline dans une cellule végétale (Raza *et al.*, 2023)

Généralement la synthèse de la proline se fait au niveau du cytosol et les chloroplastes selon deux voies : via le glutamate et l'ornithine. GSA, Glutamate-semialdéhyde ; P5CS, pyrroline-5-carboxylate synthétase ; P5CR, pyrroline-5-carboxylate réductase ; P5C, pyrroline-5-carboxylate ; P5CDH, pyrroline-5-carboxylate déshydrogénase ; OAT, l'ornithine  $\alpha$ -aminotransférase.

### 1.3 Détection, signalisation et transport de proline

La proline joue divers rôles au cours de la croissance et le développement des plantes en réponse à plusieurs contraintes biotiques et abiotiques. Sous stress abiotique, le transport de la proline dépend des signaux environnementaux (Meena *et al.*, 2019). Le métabolisme de la proline chez les plantes est étudié depuis plus de 40 ans, mais on en sait peu sur les voies de signalisation (Hayat *et al.*, 2012). Le transport intracellulaire de proline a lieu entre le cytosol, les chloroplastes et les mitochondries. Le transport de proline et sa quantité dans les différents tissus comme le xylème et le phloème sont influencés et contrôlés par la glutamine synthétase (Mondal *et al.*, 2021). La glutamine est la première molécule organique azotée qui est transaminée pour produire d'autres acides aminés ou composés contenant du N (Pratelli et Pilot, 2014). Chez les plantes non stressées, la proline s'accumule dans les vacuoles, tandis que sous stress abiotique, une teneur élevée en proline est détectée dans le cytosol.

## Chapitre I : Synthèse bibliographique

En outre, sous différents stress, la proline représente jusqu'à 80 % du stock total d'acides aminés libres, contre moins de 5 % dans des conditions normales. Cette forte accumulation de la proline dans des conditions de stress est attribuée à une biosynthèse accrue et à une dégradation limitée de cette molécule (Kaur *et al.*, 2017). Les enzymes impliquées dans la biosynthèse de la proline, y compris P5CS1, P5CS2 et P5CR, sont localisées dans le cytosol, tandis que les enzymes impliquées dans la dégradation de la proline, comme PDH1/ERD5, PDH2, P5CDH et OAT, sont localisées dans les mitochondries (Szabados et savouré, 2010).

### 1.4 Gènes impliqués dans la synthèse de la proline

L'accumulation de la proline pendant le stress est due à l'action combinée de sa synthèse et de sa dégradation à différents niveaux d'expression, en particulier au niveau transcriptionnel, où l'accumulation de la proline est expliquée par la régulation ascendante coordonnée des gènes impliqués dans sa synthèse et par la régulation descendante des gènes impliqués dans son catabolisme (Biancucci *et al.*, 2018). Les enzymes pyrroline-5-carboxylate synthétase (P5CS) et la proline déshydrogénase (ProDH) sont des enzymes clé dans la régulation du métabolisme de la proline au cours d'un stress hydrique.

Chez les plantes supérieures, l'enzyme P5CS est codé par deux gènes : P5CS1 et P5CS2 dans la plupart des espèces, alors qu'un seul gène P5CR est connu codé pour P5CR. Maghsoudi *et al.*, (2018) indiquent que le gène P5CS1 est induit par le stress hydrique et est responsable de l'accumulation accrue de la proline tandis que le P5CS2 est exprimé principalement dans les organes matures des plantes. Contrairement à P5CS1, l'expression de P5CS2 semble peu régulée par les contraintes abiotiques (Rejeb *et al.*, 2012). En revanche, les contraintes biotiques induisent l'accumulation des transcrits P5CS2. En réponse à l'attaque d'un agent pathogène, l'activation du gène P5CS2 et la synthèse de la proline chez *A. thaliana* se sont avérées positivement régulées par l'acide salicylique (SA) impliquant les espèces réactives de l'oxygène (ERO) comme signal intermédiaire. Le P5CS2 s'exprime aussi dans les cellules méristématiques lors de la division cellulaire (Szekely *et al.*, 2008).

Chez *A. thaliana*, il existe deux gènes ProDH1 et ProDH2 codent pour des isoformes de *ProDH*. L'expression du gène ProDH est fortement inhibé par la déshydratation lors de la réhydratation de la plante ou après un traitement par la proline, le catabolisme de cet acide aminé et en particulier l'expression de ProDH sont induits (Servet *et al.*, 2012)

### 1.5 Rôles de la proline endogène durant le stress

La proline est accumulée chez les végétaux en réponse à quasiment tous les types d'agression environnementales exp : sécheresse, salinité, exposition aux métaux lourds,

## Chapitre I : Synthèse bibliographique

radiation UV, basse température, etc (Raza *et al.*, 2023). Le rôle principal de la proline est sa contribution à l'ajustement osmotique, son accumulation réduit le potentiel osmotique des cellules et donc permet le maintien de la turgescence cellulaire. Elle permet aux plantes d'augmenter leur osmolarité et de protéger les structures cellulaires en situation de stress hydrique. En plus de son rôle d'osmoticum, elle contribue à stabiliser les structures subcellulaires comme les membranes et les protéines, indiquant qu'elle agit comme une molécule hydrotrope compatible avec les protéines ou encore une chaperonne qui va lutter contre la dénaturation et l'agrégation des protéines (Ashraf et Foolad, 2007).

Il est en outre admis que, la proline contribue à lutter contre les effets néfastes du stress hydrique non seulement par l'ajustement osmotique, mais aussi agit comme un antioxydant, notamment grâce à sa capacité de piégeage des radicaux libres y compris l'oxygène singulet ( $^1O_2$ ) et les radicaux hydroxyles (OH) (Szabados et Savouré, 2010). Cela permet d'atténuer les dommages oxydatifs des macromolécules cellulaires comme les lipides, ADN. Ainsi étant donné que la proline est un osmoprotecteur non enzymatique, elle permet d'augmenter l'activité de plusieurs enzymes antioxydants permettant la protection des membranes cellulaires contre le stress (Ashraf et Foolad, 2007).

D'autre part, la proline permet d'exténuer l'acidose cytoplasmique et maintenir des rapports NADP<sup>+</sup>/NADPH appropriés compatibles avec le métabolisme de la plante dans des conditions de stress (Furlan *et al.*, 2020). Aussi, il est important de noter que la proline jouerait le rôle de tampon dans la régulation du potentiel redox sous stress. Elle pourrait également être impliquée dans la régulation du pH cytoplasmique ou pour servir de réservoir de composés azotés et carbonés indispensables à la croissance des plantes (Rejeb *et al.*, 2012).

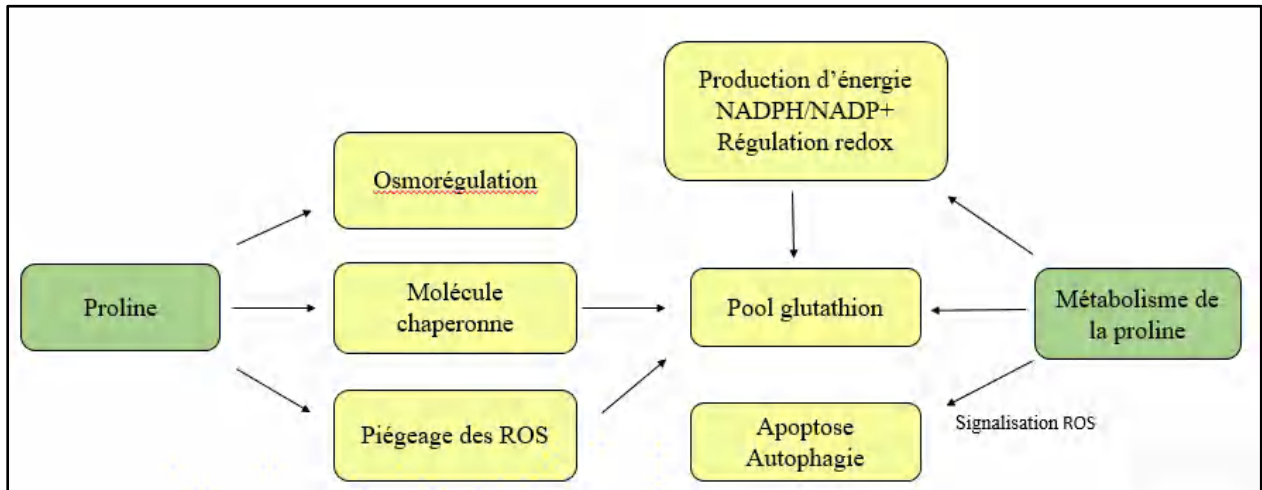
En outre, la biosynthèse et la dégradation de la proline sont impliquées dans la régulation du potentiel redox intracellulaire, le stockage d'énergie et son transfert (Rejeb *et al.*, 2012). Après la disparition du stress, la dégradation de la proline par les enzymes ProDH et P5CDH assure des performances réductrices dans les mitochondries. Les électrons de l'oxydation de la proline sont transférés aux récepteurs de la chaîne respiratoire (Liang *et al.*, 2013) et donc contribuent à l'approvisionnement de l'énergie nécessaire pour reprendre la croissance des plantes.

Un autre rôle dans la transmission du signal peut être conféré à la proline d'où cette dernière peut également fonctionner comme une molécule de signalisation pendant le stress et influencer les réponses adaptatives (Szabados et Savouré, 2010). En fait, le transport de la proline entre les différentes parties de la plante fonctionne comme un signal métabolique.



## Chapitre I : Synthèse bibliographique

La proline représente un acide aminé multifonctionnel (Figure 07), elle est souvent assignée à l'adaptation et la réponse des plantes aux contraintes environnementales. Néanmoins, il est intéressant de noter que l'accumulation de cet acide aminé ne se limite pas uniquement durant le stress. Il est impliqué dans des phases spécifiques de développement végétal comme la transition florale, le développement embryonnaire, le développement du pollen, la morphologie cellulaire et l'élongation des racines et tiges (Mattioli *et al.*, 2009; Biancucci *et al.*, 2015).



**Figure 07** : Les fonctions de la proline dans les plantes d'après Liang *et al.*, (2013)

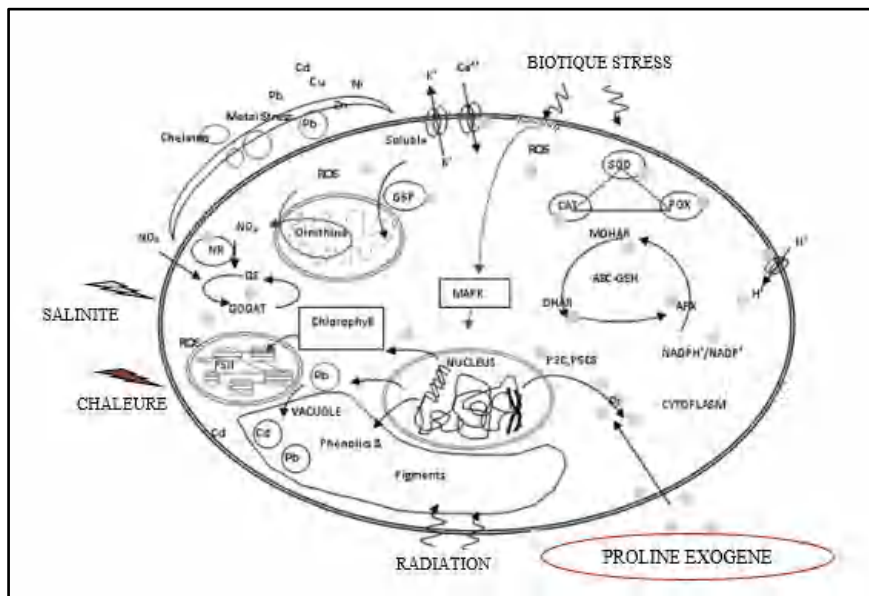
### 1.6 Implication de l'accumulation de la proline dans la réponse au stress hydrique

La biosynthèse de la proline est un trait qui est couramment cité et étudié dans la réponse des plantes au stress hydrique (Ghosh *et al.*, 2022). L'accumulation accrue de cet acide aminé dans les plantes est un phénomène souvent signalé suite à des conditions stressantes, en particulier le stress osmotique (Dar *et al.*, 2016). La proline est souvent considérée comme un paramètre de sélection des cultivars résistants au stress hydrique (Ahmad *et al.*, 2017). En fait, les niveaux de la teneur en proline sont élevés en cas de déficit hydrique et, en particulier chez les génotypes les plus tolérants à ce stress. En outre, plusieurs études ont montré que les plantes dont le métabolisme a été modifié (plantes génétiquement modifiées) pour induire la biosynthèse de la proline a amélioré les performances et la tolérance au stress hydrique. Ceci en améliorant le contrôle de l'équilibre osmotique, l'homéostasie au niveau cellulaire et en favorisant l'activation des systèmes enzymatiques ainsi les systèmes antioxydant non enzymatique. Toutefois, c'est la combinaison de ces mécanismes qui confère à la plante son aptitude à la tolérance au stress hydrique (Ghosh *et al.*, 2022).

### 1.7 Application exogène de la proline et son rôle durant le stress

Les modifications génétiques et biochimiques qui se produisent chez les plantes suite à une exposition à un stress et qui conduisent à des réponses et mécanismes adoptés par les plantes afin de pallier au dommage causé par le stress sont décrites comme des empreintes de stress (Bruce *et al.*, 2007). Ces réponses pourraient être induites par l'amorçage (priming), y compris le traitement des plantes avec des molécules accumulées en réponse au stress. Il existe plusieurs façons d'appliquer la proline exogène, les principales étant la pulvérisation foliaire, les milieux de culture, les traitements des semis et l'irrigation (Hosseinifard *et al.*, 2022).

Compte tenu des différents rôles attribués à la proline. L'application exogène de cet acide aminé sous divers stress tels que la sécheresse, la salinité, la température élevée et les métaux lourds a été largement étudiée (Ghosh *et al.*, 2022). De nombreuses études ont montré que la proline exogène peut améliorer la croissance, le rendement et la tolérance des plantes au cours des périodes de stress environnemental défavorable (Hosseinifard *et al.*, 2022). Ainsi, son apport a été mis en évidence sur plusieurs espèces végétales (blé, riz, maïs, betterave, oignon...) et sous différentes conditions de stress (Figure 08) à savoir le stress salin, le stress hydrique et le stress oxydatif.



**Figure 08** : effets de l'application exogène de la proline sous différentes situations de stress (hayat *et al.*, 2012)

Nous citerons ci-dessous quelques travaux effectués sur différentes espèces végétales et sous différents stress afin d'évoquer le rôle bénéfique de l'application exogène de la proline.

Shahzad *et al.*, (2023) ont rapporté que l'application exogène de 30 mM de proline a atténué la toxicité du nickel chez des plantes d'haricot. La proline exogène a amélioré

## Chapitre I : Synthèse bibliographique

significativement les échanges gazeux et a augmenté le niveau de la teneur en chlorophylle et en caroténoïde.

Il a été rapporté par Zuo *et al.*, (2022) que le traitement par la proline (15mM) chez des variétés de maïs soumises au stress du froid a amélioré le potentiel de germination, l'activité de l'amylase, de l'activité des enzymes P5CS et de l'OAT, et a amélioré les voies de synthèse de la proline, et par conséquent contribué à la tolérance des plantes.

Une stimulation de l'activité des systèmes antioxydant enzymatique tel que la catalase (CAT), la superoxydes dismutases (SOD) et inhibition de la formation des ROS dans le thylakoïde chez des variétés de riz soumises à un stress thermique ont été montrés par Hanif *et al.*, (2021) après l'application de 10-20 mM de proline.

L'application exogène de proline à un taux de 80 mM a entraîné une réduction de la production d'espèces réactives d'oxygène et une accumulation accrue de proline et de protéines dans les variétés de blé tendre soumises à un stress oxydatif (Noreen *et al.*, 2018)

Une amélioration de la structure morphologique de la tige ainsi que de la feuille chez la fève en condition de stress salin suite à un apport de 10Mm de proline (Taie *et al.*, 2013).

Vu les objectifs de notre étude, nous nous sommes intéressés à l'effet de la proline exogène sur la réponse des plantes en condition de stress hydrique. Nous avons synthétisé les résultats de quelques travaux (Tableau 01)

**Tableau 01** : Exemples représentatifs du rôle bénéfique de la proline en réponse au stress hydrique chez différentes espèces végétales.

Plante	Stress	Concentration de proline	observation	références
fraise	Restriction d'irrigation	100 mg	L'utilisation de la proline a augmenté considérablement la production et la qualité des fruits.	Celiktopuz <i>et al.</i> , 2023
Niébe	Stress hydrique	5mM	La proline a rétabli le potentiel d'eau foliaire, et la concentration accrue de proline et l'activité enzymatique ont amélioré la croissance.	Dos Santos <i>et al.</i> , 2022
Betterave	Stress hydrique (irrigation a 50% capacité au champs)	10 mM	Stimulation de l'activité CAT et SOD, accumulation des sucres, Chl, composés phénoliques et RWC, Réduction des MDA et EL	Alkahtani <i>et al.</i> , 2021

## Chapitre I : Synthèse bibliographique

Oignon	Stress hydrique (irrigation à 60% capacité au champs)	1-2mM	Amélioration de la croissance, photosynthèse Augmentation de 50% de l'efficacité de l'utilisation d'eau des plantes stressées traitées par la proline	Semida <i>et al.</i> , 2020
Maïs	Stress hydrique (0 and -0.5 MPa par ajout de polyéthylène glycol (PEG 6000))	1mM	Amélioration de la teneur en chl, le niveau de proline, la vitesse de la photosynthèse nette, la transpiration et la conductance stomatique	Demiralay <i>et al.</i> , 2017
Blé	stress hydrique (irrigation 35% capacité au champs)	150mg	Augmentation de la concentration de chl, la proline, la glycine bêtaïne et diminution des MDA.	Farooq <i>et al.</i> , 2017

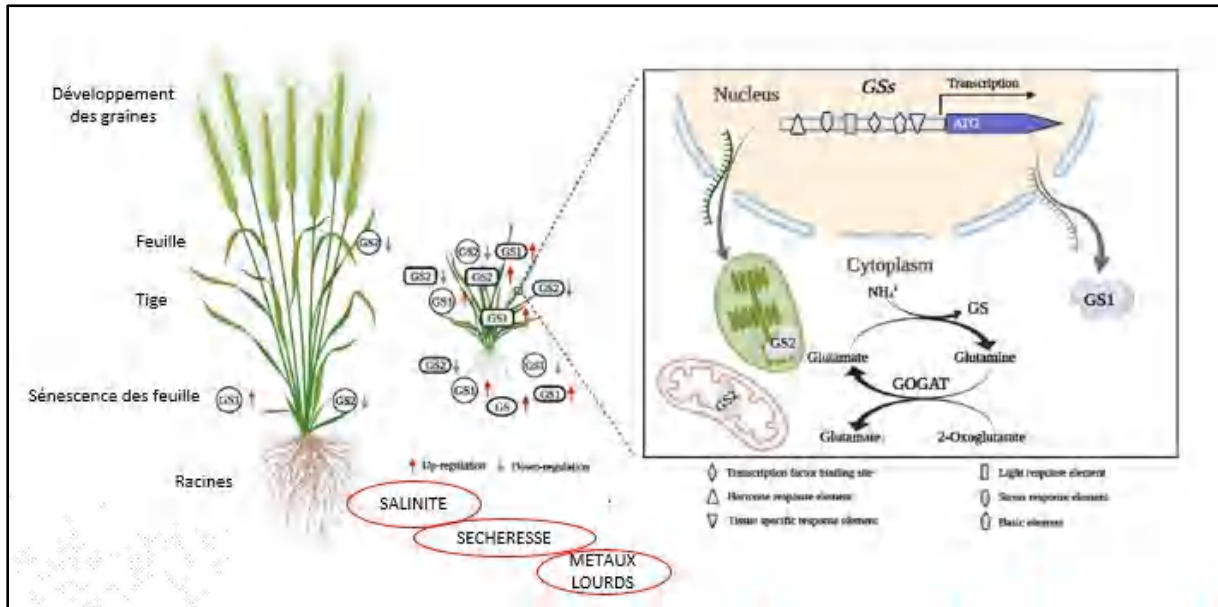
### 2. La glutamine synthétase

Le déficit hydrique affecte diverses activités enzymatiques dont, les mécanismes du métabolisme de l'azote (Kusano *et al.*, 2011). Ce dernier est un minéral indispensable pour la croissance et le développement des plantes. Cependant les plantes ne peuvent pas l'assimiler directement sous sa forme gazeuse. Il est transformé en ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) qui est un composé toxique facilement assimilé à la glutamine et le glutamate par l'action combinée des trois enzymes : la glutamine synthétase (GS), la glutamate synthétase (GOGAT), et la glutamate déshydrogénase (GHD).

La glutamine synthétase (GS) et la glutamate synthétase (GOGAT) catalysent le transfert de l'ammonium aux molécules organiques. Les ions ammonium sont incorporés dans l'acide glutamique (Glu) par la glutamine synthétase (GS) pour former la glutamine (Gln). Le groupement amide de la glutamine est ensuite transféré à un acide cétonique, l' $\alpha$  céto-glutarate ( $\alpha$ -KG), par la glutamate synthétase (GOGAT) (Oaks et Hirel, 1985). De cette façon, deux molécules de glutamate sont formées, l'une servant de substrat à la glutamine synthétase (GS) pour former la glutamine, et l'autre source d'azote organique pour la réaction de transamination conduisant à la synthèse de l'ensemble des acides aminés.

La glutamine synthétase (GS) est omniprésente dans tous les organismes. Il existe deux isoenzymes de glutamine synthétase aux rôles et localisation différents (Figure 09). La glutamine synthétase chloroplastique (GS2) est l'isoforme majoritaire des tissus photosynthétiques en particulier les feuilles jeunes. Elle est associée à l'assimilation primaire

du nitrate dans les feuilles et est impliquée dans l'assimilation de l'ammonium issu de la photorespiration. La glutamine synthétase cytoplasmique (GS1) est présente principalement dans les tissus non photosynthétiques généralement dans les racines. Elle joue entre autre un rôle important dans les processus de remobilisation de l'azote pendant la sénescence des feuilles. (Yin *et al.*, 2022)



**Figure 09** : Les multiples isoformes de la glutamine synthétase (GS) et ses rôles dans la tolérance au stress abiotique.

La glutamine synthétase (GS) et ses deux isoformes sont des indicateurs potentiels de l'état nutritionnel des plantes (Bernard *et al.*, 2008). Cette enzyme est codée par un certain nombre de gènes qui sont principalement régulés par la disponibilité de l'azote (kitchy *et al.*, 2006), mais aussi par des stress abiotiques comme la sécheresse (Bernard et habsah, 2009).

Chez la plupart des espèces étudiées, GS1 est codé par plusieurs gènes, ce qui en fait une famille multigénique et compte plusieurs isoformes qui se diffèrent d'une espèce à une autre, tandis que GS2 semble toujours codé par un seul gène. À titre d'exemple, trois gènes GS1 ont été identifiés dans le riz, sept dans le blé, cinq dans le maïs, cinq dans l'Arabidopsis et jusqu'à seize dans le brassica napus (Orsel *et al.*, 2014).

## 2.1 Rôles de la glutamines synthétase

La glutamine synthétase (GS) est impliquée dans divers processus physiologiques tels que la photosynthèse et la biosynthèse de la chlorophylle (Reboloso *et al.*, 2001), la photorespiration (Oliveira *et al.*, 2002), la surface foliaire totale, la hauteur de la plante et le poids sec des feuilles. Cependant, plusieurs études ont montré la capacité de la glutamine synthétase à atténuer les effets néfastes causés par plusieurs stress abiotiques (Yin *et al.*, 2022)

## *Chapitre I : Synthèse bibliographique*

Szabados *et al.* (2010) ont suggéré que les plantes accumulent de la proline afin de maintenir une croissance normale dans des conditions de stress hydrique, ceci est principalement dû à l'amélioration du cycle GS-GOGAT afin de promouvoir la voie de synthèse de la proline avec le glutamate comme précurseur.

Cheng *et al.* (2016) ont constaté que l'expression du gène de la GS2 était positivement régulée en réponse au stress hydrique chez des géotypes blé, et cette régulation a entraîné une accumulation accrue de proline, ce qui a amélioré la capacité d'osmorégulation cellulaire. Il en est de même dans les résultats obtenus par Díaz *et al.* (2010) qui ont montré que des mutants de lotus surexprimant le gène GS2 tolérait mieux la déshydratation que le type sauvage et présentaient des changements multiples au niveau du transcriptome et dans l'état physiologique des plantes.

Yu *et al.* (2020) ont montré que la surexpression des gènes GS1 et GS2 du blé, augmentait la tolérance à la sécheresse en augmentant la capacité d'accumulation de saccharose, de la proline et de la chlorophylle, ainsi que la détoxification des espèces réactives d'oxygène. Ces résultats suggèrent que le GS joue un rôle clé dans la tolérance des plantes au stress osmotique.

***Chapitre II:***  
***Matériel et Méthodes***

## II.1 Matériel végétal

Afin d'aborder l'impact du stress hydrique sur le comportement de quelques variétés de blé dur et d'apprécier leur réponse adaptative, il a été choisi une collection de dix génotypes de blé dur (*Triticum durum*) comportant des populations locales anciennes et des variétés améliorées localement ou introduites, fournis par l'institut technique des grandes cultures (ITGC) de Constantine. Le nom, le pédigrée et l'origine des génotypes sont cités dans le tableau (02). L'ensemble de ces génotypes est utilisé dans toutes les expérimentations décrites dans ce chapitre.

**Tableau 02 : Pédigrée, origine et acronyme des génotypes étudiés**

Génotype	Pédigrée	Origine
<b>Ain lehma</b>	Beltagy"	Algerie
<b>Beni mestina</b>	Shva/Yav_2//Ch1 2003	ICARDA/ALGERIE
<b>Bidi 17</b>	sélection locale	Algérie
<b>Cirta</b>	KB214-0KB-20KB-OKB-OKB-1KB-0KB	ITGC khroub Algerie
<b>GTA dur</b>	Crane/4/PolonicumPI185309//T.glutin en/2* Tc60/3/GII	Mexique/Algérie
<b>Oued zenati</b>	Sélection locale	Algérie
<b>Simeto</b>	Capeiti8/Valvona	Italie
<b>Vitron</b>	Turkey77/3/Jori/Anhinga//Flamingo	Espagne
<b>Waha</b>	Plc/Ruff//Gta's/3/Rolette CM 17904	Cimmyt-Icarda
<b>Wahbi</b>	KB86022-1KB-0KB-2KB-2KB-0KB	Algérie

## II.2 Première expérimentation : Evaluation de la réponse physiologique et biochimique des variétés de blé dur soumises au stress hydrique par un arrêt d'arrosage

Cette étude est consacrée à l'évaluation de la variabilité des mécanismes de fonctionnement mis en jeu par des variétés de blé dur en situation d'une contrainte hydrique imposée par un arrêt d'arrosage en conditions semi contrôlées (sous serre). L'évaluation porte sur une caractérisation physiologique et biochimique de la feuille étendard des différents génotypes de blé.

### II.2.1 Conditions de culture des plantes

Avant la mise en germination, les graines de blé ont été désinfectées en les trempant dans de l'éthanol 70% pendant une minute tout en agitant afin de dissoudre les substances cireuses. Les traces de cet alcool sont ensuite éliminées par un rinçage avec de l'eau stérile déminéralisée. Après, les graines sont immergées pendant 15 min dans une solution



## Chapitre II : Matériel et méthodes

d'hypochlorite de sodium à 5%, suivi de trois rinçages à l'eau distillée stérile. Enfin les semences sont mises à germer sur papier Wattman humide dans des boîtes de pétries à 25°C et à l'obscurité.

Quand les premières racines apparaissent, les plantules sont sélectionnées puis transplantées dans des pots en plastiques contenant 5 kg d'un mélange de terre et de sable (2 : 1 v/v) à raison de cinq graines par pot. La croissance se déroulera sous serre (Figure 10) sous des conditions semi-contrôlées : environ 14 h lumière / 10 h d'obscurité, 22 °C +/- 4° C et une humidité relative de 60 % à 75 %. Les plantes sont arrosées régulièrement de manière qu'elles soient à leur niveau hydrique optimal jusqu'au stade d'application du stress. La conception expérimentale était hiérarchique et complètement randomisée avec trois répétitions.



**Figure 10 :** Dispositif de culture sous serre

### II.2.2 Application du stress hydrique

Les pots sont placés dans la serre selon un dispositif en randomisation totale et sont irrigués régulièrement, tous les deux jours jusqu'à l'obtention de la feuille étendard. A ce stade le stress hydrique est imposé par un arrêt d'arrosage pendant deux semaines. Les plantes témoins quant à elles, ont été arrosées régulièrement jusqu'à saturation tout au long de l'expérience.

Après 15 jours de déficit hydrique, un échantillonnage aléatoire est effectué, et les feuilles des différentes plantes sont prélevées et conservées à -80°C pour les différentes mesures définies ci-après. Trois répartitions par géotypes et par traitement sont effectuées.

### II.2.3 Stade d'étude et paramètres mesurés

La caractérisation de la réponse des différents géotypes étudiés est faite sur la feuille étendard, il s'agit de l'étude des paramètres physiologiques (la teneur relative en eau, la conductance stomatique et la conductivité électrolytique) et des paramètres biochimiques

## *Chapitre II : Matériel et méthodes*

(contenu en pigments photosynthétiques, proline, sucres, malondialdéhyde, glutamine synthétase et des protéines).

### **II.3 Deuxième expérimentation : Evaluation des performances agronomiques, physiologiques et biochimiques des génotypes de blé dur dans des conditions de pleins champs**

L'ajustement osmotique comme mécanisme majeur d'adaptation aux différents stress de l'environnement permet de maintenir de nombreuses fonctions physiologiques et peut intervenir à tous les stades de développement des plantes. A cet égard, la présente étude repose sur l'hypothèse que la teneur en proline peut avoir une corrélation avec le rendement et ses composantes et peut servir d'outil de dépistage pour la sélection de génotypes tolérants. De ce principe cet essai est entrepris en vue de décrire les traits physiologiques et biochimiques des différents génotypes étudiés en conditions de pleins champs pour ainsi, mettre en évidence, d'éventuelles différences génotypiques dans l'aptitude à accumuler la proline.

#### **II.3.1 Mise en place de l'expérimentation**

L'essai en plein champs a été réalisé durant les deux campagnes agricoles 2018/2019 et 2019/2020 sur le site expérimental de l'institut technique des grandes cultures (ITGC) d'El Khroub-Constantine, à une altitude de 640m, une latitude de 36,25 Nord et une longitude de 6,67 Est situé dans la région d'EL Baaraouia. Le climat du site est de type méditerranéen, appartenant à l'étage bioclimatique semi-aride.

#### **II.3.2 Dispositif expérimental**

L'essai a été mené au cours des deux campagnes agricoles en plein champs (essai pluvial), cet essai est réalisé selon un dispositif expérimental en bloc complètement randomisé à quatre répétitions avec comme facteur le génotype. La dimension de la parcelle élémentaire est de 1.20 mètre de largeur et 5mètre de longueur avec six lignes distantes de 20 cm entres elles (Figure 11). Le semis a été effectué à l'aide d'un semoir la mi-décembre dont chaque parcelle élémentaire a reçu 100 g de graines.



Figure 11 : Dispositif de l'expérience en plein champs

### II.3.3 Stade d'étude et paramètres mesurés

Cette partie d'étude est destinée à relier le rendement des dix génotypes de blé dur aux divers caractères morpho physiologiques et biochimiques d'adaptation à la sécheresse. Les mesures de la TRE, chlorophylle, teneur en proline, EL et teneur en malondialdéhyde sont effectuées sur la feuille étandard pour l'ensemble des génotypes.

### II.4 Troisième expérimentation : Evaluation de l'apport exogène de la proline sur le comportement morpho-physiologique et biochimique des variétés de blé dur soumises au stress hydrique stimulé par l'ajout du PEG-6000

L'accumulation de la proline est l'un des traits adaptatifs fréquemment observés chez les plantes en réponse à diverses contraintes environnementales dont le stress hydrique. Afin de mieux déterminer le rôle de la proline chez *triticum durum* en réponse à la contrainte hydrique, nous évaluons dans cette expérimentation l'impact de l'apport exogène de la proline sur le comportement des variétés de blé dur soumises à une contrainte hydrique par l'ajout de polyéthylène glycol PEG-6000. Donc, cette étude porte sur la possibilité d'exploiter l'application exogène de la proline pour améliorer la réponse du blé en conditions stressantes.

#### II.4.1 Conditions de culture des plantes

Pour cette expérimentation, nous avons opté pour le mode de culture en hydroponie. Ce dernier a été choisi pour un meilleur contrôle de la croissance et une meilleure homogénéisation de l'apport en nutriments. Ainsi, il offre l'avantage d'un meilleur contrôle du potentiel osmotique, notamment suite à l'addition du polyéthylène glycol PEG-6000 et il assure une absorption directe de la proline ajoutée au milieu nutritif écartant ainsi les interactions proline/sol.

## Chapitre II : Matériel et méthodes

Les semences de blé ont été auparavant désinfectées et mises à germer sur papier Wattman humide dans des boîtes de pétries à 25°C et à l'obscurité. Après germination, les plantules ont été repiquées sur le milieu nutritif hydroponique de Broughton et Dilworth (1971) (milieu BD) enrichi en macro- et oligoéléments. La croissance des plantes s'est déroulée sous conditions contrôlées en chambre de culture avec une luminosité de 16 h de lumière/8 h d'obscurité et une température de l'ordre de  $23 \pm 0,5$  °C. La conception expérimentale était hiérarchique et complètement randomisée avec trois répétitions pour chaque traitement.

### II.4.2 Application des traitements

La contrainte hydrique imposée dans notre expérimentation a été induite par un ajout du PEG-6000. Le PEG est fréquemment employé pour stimuler l'effet du stress hydrique sur les plantes. Ce produit polymère, non ionique, hydrosoluble, non perméable aux cellules et de poids moléculaire élevé (Chefdor., 2006) a été utilisé comme un agent osmotique pour abaisser le potentiel de l'eau d'une manière relativement contrôlée et semblable au séchage de sol.

L'addition de la proline dans le milieu nutritif a été choisie en considération de son importance et de ses multiples rôles dans la croissance et le développement des plantes face à différentes contraintes environnementales (comme il a été cité dans le chapitre 1).

La culture fut poursuivie jusqu'à obtention de la troisième feuille. Les plantules ont été exposées à quatre traitements différents :

**Control 1** : plantes cultivées en milieu BD (sans PEG ni traitement à la proline exogène) (C).

**Control 2**: plantes cultivées en milieu BD additionné de 6 mM de proline (C+P).

**Stressé 1** : plantes cultivées en milieu BD additionné de 20% de PEG-6000(S).

**Stressé 2** : plantes cultivées en milieu BD additionné de 20% de PEG-6000 +6 mM de proline (S+P)

Plusieurs essais prédictifs ont été exécutés afin de déterminer les concentrations adéquates du PEG-6000 et de la proline exogène. Les résultats obtenus ont permis de choisir une concentration de 20% du PEG ce qui correspond à  $-0.49$  MPa et une concentration de 6 mM de proline exogène.

La solution nutritive de Broughton et Dilworth contenant (0 ou 6 mM de proline) a été renouvelée tous les quatre jours pour faire le plein de nutriments. Cependant, la première application des traitements (20 % de PEG-6000) a été effectuée après une semaine de croissance, et la deuxième application a été effectuée au cours de la troisième semaine.

### II.4.3 Stade d'étude et paramètres mesurés

Après un mois de culture, l'étude de l'effet de la proline exogène sur le comportement des géotypes étudiés est faite sur la troisième feuille bien développée, il s'agit de l'étude la

## *Chapitre II : Matériel et méthodes*

croissance en longueur (foliaire et racinaire), des paramètres physiologique (la teneur relative en eau, la conductance stomatique et la conductivité électrolytique) et des paramètres biochimiques (contenu en pigments photosynthétiques, proline, sucres, malondialdéhyde et des protéines).

### **II.5 Quatrième expérimentation : Etude de l'expression des gènes de P5CS1, P5CR et GS2 en réponse au stress hydrique par RT-PCR quantitative.**

Afin de faire face aux effets néfastes du stress hydrique, les cellules végétales modifient l'expression de certains gènes responsable de l'accumulation de la proline qui interviennent dans l'ajustement osmotique suite à l'exposition au stress. Ces gènes codent pour des enzymes du métabolisme de la proline P5CS1 et P5CR. Nous évaluons dans cette expérimentation, le niveau d'expression de ces gènes en condition de stress hydrique induit par PEG-6000.

#### **II.5.1 condition de culture**

Les graines de blé ont été désinfectées en les trempant dans de l'éthanol 70% pendant une minute tout en agitant afin de dissoudre les substances cireuses. Les traces de cet alcool sont ensuite éliminées par un rinçage avec de l'eau stérile déminéralisée. Après les graines sont immergées pendant 15 min dans une solution d'hypochlorite de sodium à 5%, suivi de trois rinçages à l'eau distillée stérile. Enfin les semences sont mises à germer sur papier Wattman humide dans des boîtes de pétries à 25°C et à l'obscurité. Après la germination, les plantules sont transférées dans des pots en plastique contenant du terreau, elles ont ensuite poursuivi leur croissance en chambre de culture sous des conditions contrôlées.

#### **II.5.2 Application du stress hydrique et stade d'étude**

Les pots sont placés dans la chambre de culture selon un dispositif en randomisation totale et sont irrigués régulièrement avec la solution nutritive (milieu BD) jusqu'à l'obtention de la troisième feuille. A ce stade, les plantes sont séparées en deux lots :

**Le premier lot** : les plantes irriguées avec la solution nutritive. Lot qui représente les plantes témoins.

**Le deuxième lot** : les plantes irriguées avec la solution nutritive + PEG-6000 (20%). Lot qui représente les plantes stressées.

Après trois jours de déficit hydrique, un échantillonnage aléatoire est effectué, et les feuilles des différentes plantes sont prélevées et conservées à -80°C pour l'étude de l'expression génétique.

#### **II.6 Principes des paramètres mesurés**

Les différentes méthodes utilisées pour étudier les paramètres effectués dans toutes les expérimentations réalisées sont détaillées ci-dessous.

### II.6.1 Mesure de la croissance aérienne

La longueur de la partie aérienne et racinaire est exprimée en centimètre (cm) a été mesurée à l'aide d'une règle graduée.

### II.6.2 Teneur relative en eau (TRE)

La teneur relative en eau permet d'évaluer le statut hydrique de la plante. Elle a été déterminée selon la méthode décrite par Barrs et Weatherley (1962). Pour cela, la feuille étendard a été pesée immédiatement après la récolte ce qui représente le poids frais de la feuille (PF). Ensuite, elles sont placées dans des tubes à essai contenant de l'eau distillée à l'obscurité pendant 24h puis pesées à nouveau afin d'obtenir le poids à la turgescence (PT). Enfin pour avoir le poids sec (PS) les feuilles sont mises à sécher à l'étuve à 80°C pendant 48h. La TRE est calculée selon l'équation suivante :

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

### II.6.3 Conductance stomatique

La conductance stomatique permet d'exprimer le niveau d'ouverture et de fermeture des stomates. Elle a été mesurée sur la feuille étendard à l'aide d'un poromètre à diffusion de vapeur d'eau (modèle Delta-T AP4).

### II.6.4 Conductivité électrolytique

La conductivité permet d'apprécier le degré d'intégrité cellulaire, elle indique la quantité d'électrolytes dans le milieu aqueux dans lequel le tissu foliaire est submergé. Plus la feuille est saine et intacte, moins ses disques libèrent d'électrolytes (EL) dans l'eau d'immersion et plus faible est la valeur de la conductivité. La conductivité a été mesurée selon la méthode décrite par Singh *et al.*, (2008). Des feuilles fraîches (100 mg) sont lavées avec de l'eau distillée, ensuite coupées en petits morceaux et placés dans des tubes à essais contenant 10 ml de l'eau déionisée. Après agitation à température ambiante pendant 30 min, la première conductivité (C1) est lue à l'aide d'un conductivimètre de type LF 92. Par la suite, les tubes à essais sont plongés au bain marie pendant 30 min à 95°C afin d'obtenir une destruction totale de la matière végétale. Après refroidissement, la conductivité (C2) est de nouveau mesurée. Le pourcentage EL est déterminé suivant la formule suivante :

$$\% \text{REL} = \text{C1} / \text{C2} \times 100$$

### II.6.5 Dosage de la chlorophylle

Les teneurs en chlorophylle a et b et caroténoïdes sont déterminées selon la méthode de Lichtenthaler et Wellburn (1983). 0.1g de matière végétale fraîche est broyée dans 2 ml d'acétone à 85 %. Une centrifugation est effectuée par la suite sur le broyat pendant 15 min à 3000 rpm. Les surnageants sont récupérés et la teneur en pigment photosynthétique est

## Chapitre II : Matériel et méthodes

déterminée à des longueurs d'ondes de 645, 663 et 470 nm par dosage au spectrophotomètre UV-visible, modèle Biomate 3. Les résultats sont exprimés en concentration de chlorophylle en  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  et ont été obtenus à partir des équations suivantes (Lichtenthaler et Wellburn 1983):

**chlorophylle a : Chl a = 12,21 DO663 – 2,81 DO645**

**chlorophylle b : Chl b = 20,13 DO645 – 5,03 DO663**

**chlorophylles totales : Chl = Chl a + Chl b**

### II.6.6 Dosage de la proline libre

Le dosage de la proline est effectué selon le protocole de Troll et Lindsley (1955), modifié par Monneveux et Nemmar (1986). Cette technique est basée sur la capacité de la proline à s'oxyder par la ninhydrine en milieu acide et à chaud pour produire un composé de couleur rose, soluble dans les solvants organiques tels que le toluène. 0.1 g de matière végétal fraîche est extraite dans 2ml du méthanol à 40% pendant 60 min à 85°C. Après refroidissement, il est ajouté aux extraits de l'acide acétique, de la ninhydrine et l'acide orthophosphorique. La solution obtenue est portée à ébullition pendant 30 mn à 100°C, la solution vire au rouge, après refroidissement du mélange réactionnel, 5 ml de toluène a été ajouté.

Après agitation de la solution, deux phases se séparent, la phase supérieure organique contenant la proline et la phase inférieure aqueuse qui sera éliminée. La phase supérieure est récupérée et déshydratée par l'ajout d'une spatule de Sulfate de Sodium  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhydre et sa densité optique a été mesurée à une longueur d'onde de 520 nm au spectrophotomètre. Les valeurs obtenues sont converties en taux de proline par le biais d'une gamme étalon réalisée à l'aide de concentrations croissantes d'une solution mère de proline.

### II.6.7 Dosage des sucres solubles

Le dosage des sucres solubles est réalisé selon la méthode de Dubois *et al.*, (1956). 0.1g de matière végétale fraîche est extraite dans 3 ml d'éthanol à 80% pendant 48 heures. Ensuite, les tubes sont placés dans l'étuve à 80°C pour faire évaporer l'éthanol. Une fois évaporés, les résidus sont homogénéisés dans 20 ml d'eau distillée. Au moment du dosage, il est ajouté à la solution à analyser 1 ml de phénol à 5%, suivie directement de 5 ml d'acide sulfurique ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) concentré à 96 %. On obtient une solution jaune orange à la surface, après passage au vortex la solution est maintenue 10 min à l'obscurité et à température ambiante et ensuite placée au bain-marie durant 15 min à une température de 30°C. Après refroidissement les densités optiques sont lues à une longueur d'onde de 485 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Les concentrations sont déterminées à partir d'une gamme étalon réalisée à l'aide de concentrations croissantes d'une solution mère de glucose.

### **II.6.8 Dosage du contenu en malondialdéhyde**

L'extraction et le dosage du malondialdéhyde (MDA), produit de la peroxydation lipidique est réalisé selon la méthode décrite par Heath et Packer (1968). 0.1g de matière végétal est prélevée et broyée à froid dans 2 ml d'acide trichloracétique (TCA, 0.1%). Après une centrifugation de 15 min à 12000 rpm, le surnageant est récupéré et utilisé pour déterminer la teneur en MDA. À 0,5 ml de surnageant, sont additionnés 0,5 ml d'acide thiobarbiturique (TBA, 0.5 %) préparé dans du TCA (20 %). L'homogénat est alors incubé à 95 °C dans un bain-marie pendant 30 min. La réaction est arrêtée par refroidissement immédiat du mélange dans de la glace. Après une centrifugation de 10 min à 10.000 rpm, le surnageant est récupéré et l'absorbance est lue au spectrophotomètre à 532 nm. La concentration en MDA est calculée en utilisant le coefficient d'extinction ( $155\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) après la soustraction de l'absorbance à 600 nm.

### **II.6.9 Dosage des protéines totales**

L'extraction des protéines totales est réalisée sur 0.1 g du matériel végétal broyé et homogénéisé à basse température en présence de 1.5 ml de tampon d'extraction (Tris-HCl 0,1 M, 10 % de saccharose, 0,05 % de  $\beta$  mercaptoéthanol, pH = 8,1). Le mélange obtenu est centrifugé à 15 000 rpm pendant 30 min à 4°C. Les surnageant sont récupérés dans de nouveaux tubes pour déterminer la quantité des protéines

Le dosage des protéines total est réalisé selon la méthode de Bradford (1976) qui se base sur l'utilisation du bleu de Coomassie (G250) ayant la propriété de se lier aux protéines, cette liaison fait apparaitre une coloration bleue qui est proportionnelle à la quantité des protéines présente dont son intensité est mesurée à une longueur d'onde de 596 nm. A 100  $\mu\text{l}$  d'extrait protéique sont ajoutés 3ml du réactif de bradford. La quantité de protéines est évaluée à l'aide d'une courbe d'étalonnage réalisée avec des concentrations croissantes d'albumine de sérum bovin (BSA).

### **II.6.10 Dosage de l'activité de la glutamine synthétase**

L'extraction et le dosage de la glutamine synthétase est réalisée suivant le protocole de O'Neal et Joy (1973). Le matériel végétal (0,1 g) est broyé et homogénéisé dans un tampon d'extraction (2,5 mM Tris- HCl 25 mM (pH 7,8), 1 mM EDTA, 1 mM  $\text{MgCl}_2$  1 mM et 13.4  $\mu\text{M}$   $\beta$ -mercaptoéthanol). L'extrait est ensuite homogénéisé pendant 1 min puis centrifugé à 15000 rpm pendant 15 min à 4°C. Le surnageant est prélevé et constitue l'extrait protéique brut.

L'hydroxylamine est utilisée comme substitut à l'ion ammonium lors de la réaction enzymatique. Le milieu réactionnel est composé de 80 mM glutamate, 20 mM de  $\text{MgCl}_2$ , 6mM hydroxylamine, 4 mM d'EDTA et 8mM d'ATP. La réaction se déroule à 30°C pendant 30 min



## Chapitre II : Matériel et méthodes

sous agitation, ensuite elle est arrêtée par l'ajout de de FeCl<sub>3</sub> (FeCl<sub>3</sub> 0,37 mM préparé dans un mélange d'acide trichloroacétique 0,2 M et d'acide chlorhydrique 0,6 M) qui, en présence de  $\gamma$ -glutamyl hydroxamate, donne un complexe coloré brun. Les échantillons sont centrifugés à 10000 rpm pendant 5 min et 200  $\mu$ L de surnageant sont utilisés pour mesurer au spectrophotomètre à 540 nm l'absorbance due au complexe formé entre l' $\gamma$ -glutamyl-hydroxamate et l'ion ferrique. La quantité du produit de la réaction est déterminée à l'aide d'une gamme étalon réalisée avec des concentrations croissantes en  $\gamma$ -glutamyl hydroxamate.

### II.6.11 Extraction des ARN par la méthode de trizol

Après la récolte des feuilles, ces dernières ont été moulues en fine poudre en présence de l'azote liquide afin d'éviter la dégradation des tissus et préserver les acides nucléiques. L'extraction des ARN est faite selon la méthode du TRIzol (Pang *et al.*, 2007). 0.1mg de poudre végétale est homogénéisée avec 1ml de réactif de TRIzol et incubé 5 min à température ambiante. Après l'ajout de 200  $\mu$ l de chloroforme le tout est bien agité pendant 15 secondes.

Les tubes, ainsi traités, sont incubés sous température ambiante pendant 5 min, ensuite on procède à une centrifugation à 12 000 rpm pendant 15 minutes à 4°C. La phase aqueuse est reprise dans d'autres tubes, auxquels on ajoute 500  $\mu$ l d'isopropanol froid et incubé 10 min à température ambiante. Après une Centrifugation de 10 min à 12000 le surnagent est jeté et le culot est lavé avec 500  $\mu$ l d'éthanol froid à 70 %, puis il est centrifugé à froid pendant 10 min et à vitesse maximale. Les culots sont desséchés sous hotte pendant 10 minutes, pour éliminer l'excès d'éthanol. On rajoute aux échantillons 50-100  $\mu$ l DEPC-H<sub>2</sub>O et la solubilisation des échantillons est favorisée par le passage au bain marie à une température de 60°C pendant 10 minutes.

La concentration d'ARN est déterminée à l'aide d'un nanodrop. L'absorbance de la solution est mesurée à 260 nm et à 280 nm (A<sub>260</sub> et A<sub>280</sub>), la pureté de l'échantillon est évaluée par le rapport  $A_{260\text{ nm}}/A_{280\text{ nm}}$  qui doit être compris entre 1.8 et 2.0. La qualité des ARN est vérifiée sur gel d'agarose à 1%.

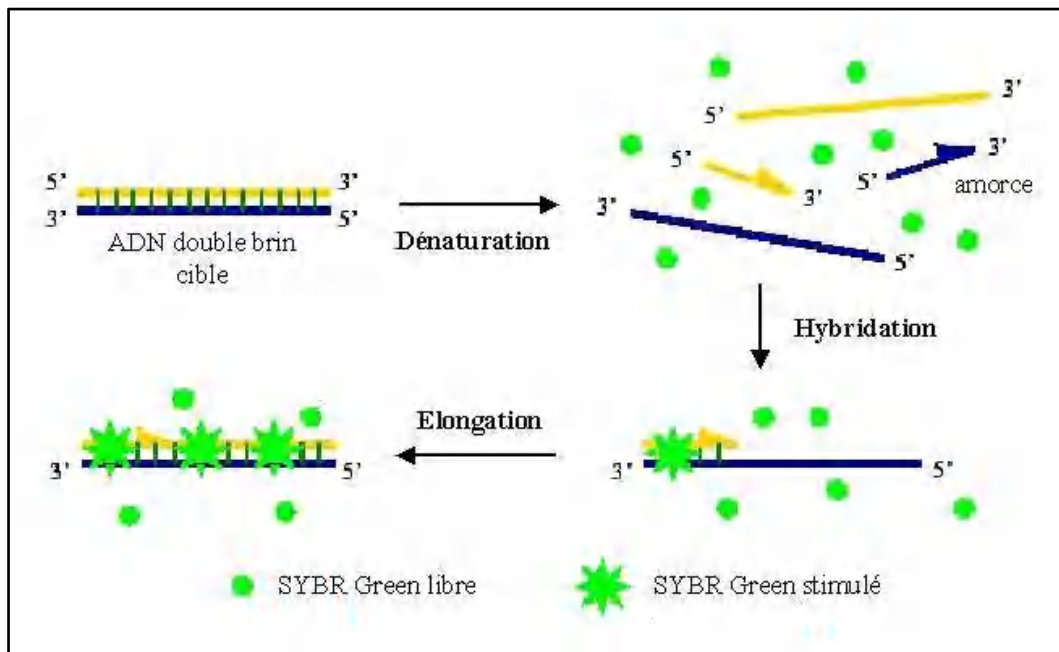
#### a- Synthèse des ADN complémentaire (ADNc)

Les ADNc ont été générés à partir de 1,5  $\mu$ g de matrice ARN en utilisant la transcriptase Inverse. L'ADNc fut synthétisée dans un mélange réactionnel contenant : 5  $\mu$ l de tampon 5X, 1  $\mu$ l de dNTPs (10mM), 2  $\mu$ l d'OligodT, et 2  $\mu$ l d'enzyme M-MLV. L'ensemble a été incubé à 37°C pendant une heure. Après incubation, les échantillons sont dilués 20 fois et conservé à -20°C.

**b- PCR quantitative en temps réel**

- Principe de la technique

La PCR quantitative permet de mesurer et suivre en temps réel la variation d'expression d'un gène donné pour un tissu ou un type cellulaire dans une condition par rapport à une autre. Cette technique permet, parallèlement l'amplification, la détection et la quantification de l'ADN grâce à un émetteur fluorescent formé au cours de l'amplification, dont le signal de fluorescence est proportionnel à la quantité d'amplicons générés au cours de la réaction. Le marqueur fluorescent utilisé est le SYBR green, ce colorant devient fluorescent dès qu'il se lie à l'ADN double brin. A chaque cycle de polymérisation, de nouvelles molécules double brin sont produites, et le SYBR Green s'intercale entre les bases nucléotidiques de l'ADN et produit une émission d'un signal fluorescent lorsqu'il est excité par des rayons ultraviolets (Figure 12).

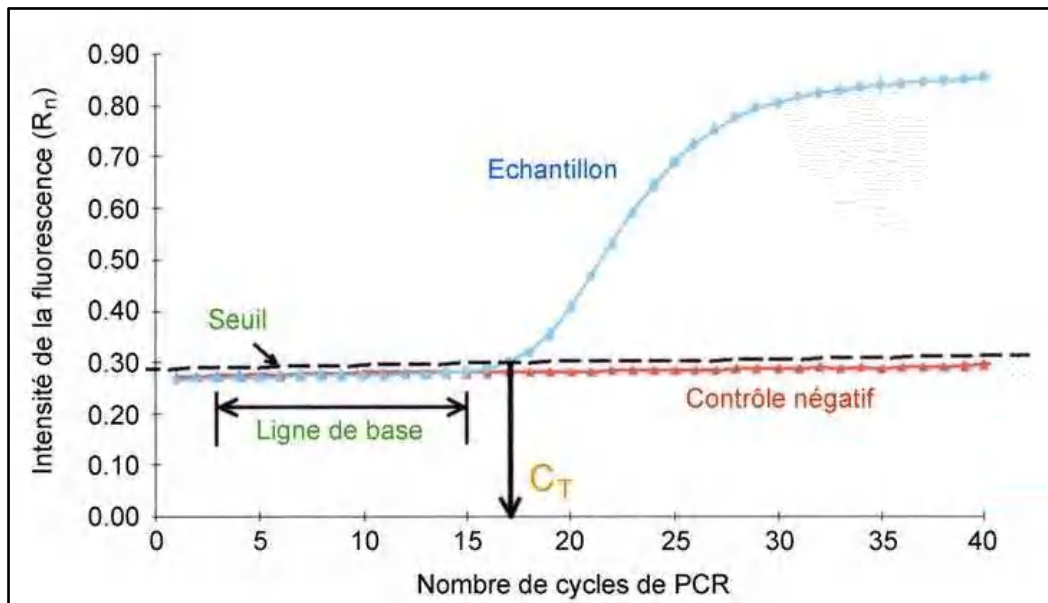


**Figure 12 :** Utilisation du SYBR Green en cours de QPCR

Le SYBR Green I est un agent intercalant qui augmente l'émission de fluorescence en liaison avec l'ADN double brin. Lors de l'étape d'élongation de chaque cycle d'amplification, l'intensité du signal fluorescent augmente, suite à la fixation, au double brin d'ADN naissant, et progressivement avec l'activité de l'ADN polymérase.

La quantification par PCR en temps réel repose sur le concept de "cycle threshold" ou cycle seuil Ct. Le Ct est défini comme le nombre de cycles d'amplification requis pour que l'intensité de la fluorescence atteigne un niveau statistiquement et significativement plus élevé que le bruit de fond (Figure 13). Ce point apparaît toujours au cours de la phase exponentielle de la réaction d'amplification. En général, plus l'échantillon contient d'ADN cible, plus l'amplification est rapide, et plus le nombre de cycles requis pour que le signal fluorescent

franchisse la valeur seuil est faible (faible valeur Ct). La valeur de Ct est inversement proportionnelle à la quantité d'ADN cible.



**Figure 13 :** Principe de la quantification par PCR en temps réel

Pour chaque échantillon testé, une valeur Ct ("cycle threshold") est définie ; elle correspond au nombre de cycles de PCR nécessaires pour que la fluorescence atteigne un niveau seuil, statistiquement et significativement distinct du bruit de fond (ligne de base). Plus la quantité de matrice cible initialement présente dans l'échantillon testé est élevée, plus la valeur Ct est faible.

- Quantification des ADNc par PCR en temps réel

Pour chaque échantillon d'ADNc, plusieurs réactions de PCR sont réalisées en parallèle et en double dans une plaque 96 puits, en utilisant des couples d'amorces spécifiques des gènes cibles (P5CS, P5CR et GS) et du gène de référence (Actine). Les séquences des amorces spécifiques correspondantes aux gènes d'intérêt et de référence sont présentées dans le tableau 03. Ces amorces sont choisies à partir de séquences publiées (Jallouli *et al.*, 2019) ayant démontré une amplification spécifique aux gènes cibles.

## Chapitre II : Matériel et méthodes

**Tableau 03** : Amorces utilisées pour l'analyse des de l'expression gènes

Gene candidat	Séquence de l'amorce 5'----- 3'
<b>Pyrroline 5 carboxylate synthetase (P5CS) F</b>	GAGACAAGTCCCGTGTGGT
<b>Pyrroline 5 carboxylate synthetase (P5CS) R</b>	CCCCACGGAGAACTTTAACA
<b>Pyrroline 5 carboxylate reductase (P5CR) F</b>	GAAGCAGGTTCTGGTTGAGC
<b>Pyrroline 5 carboxylate reductase (P5CR) R</b>	GCCAGTAACCGCATCAAAT
<b>Glutamine synthétase (GS2) F</b>	CCGTCGGAGCTACCCAAATG
<b>Glutamine synthétase (GS2) R</b>	TCCCCTTGTGGCGTGTAGGT
<b>ACTINE F</b>	ATGAAGATATCGCTGCCCTTGT
<b>ACTINE R</b>	CCAGCGAAACCGGCTTTATTCA

L'amplification est effectuée sur un appareil qTOWER 2, dans un volume réactionnel de 20 µl contenant : une quantité d'ADNc correspondant à 2 µl, 4 µl de chaque amorce sens et anti sens et 10 µl de SYBR Green PCR master mix 2×. Chaque échantillon d'ADNc sert également de matrice pour une PCR à l'aide d'amorces spécifiques du gène actine (Act) ; ce gène de ménage dont l'expression est constitutive et stable, est utilisé pour évaluer la quantité initiale d'ADNc présente dans chaque échantillon et normaliser les résultats. Les conditions thermiques de l'amplification sont identiques quelques soient les amorces utilisées : une étape de dénaturation pendant 180 secondes à 95°C puis 40 cycles d'amplification constitués de la succession d'une étape de 10 secondes à 95°C et d'une étape d'1 min à 60°C.

- Calcul et analyse des résultats

Après l'amplification, les valeurs des Ct spécifiques des gènes étudiés et du gène de ménage Actin sont déterminées à l'aide du logiciel software qPCRsoft pour chaque échantillon. La quantité d'ADNc spécifique d'un gène cible est alors calculée, relativement à un échantillon choisi comme référence et après normalisation par rapport à la quantité d'ADNc spécifique de l'Actin, en utilisant la formule  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  où :

$$\Delta\Delta Ct = (Ct \text{ gène cible} - Ct \text{ actine})_{\text{échantillon}} - (Ct \text{ gène cible} - Ct \text{ actine})_{\text{référence}}$$

Dans notre cas, les échantillons d'ADNc des plantes témoins sont utilisés comme référence.

### II.6.12 Paramètres de rendement et ses composantes

A maturité, nous avons déterminé les paramètres cités ci-après et afin d'éviter l'effet de bordure, dix plantes choisies au hasard au centre de chaque parcelle élémentaire ont été retenus pour déterminer tous les paramètres considérés dans cette étude.

## *Chapitre II : Matériel et méthodes*

### **a- Le nombre d'épis par mètre carré (NE/m<sup>2</sup>)**

Il est déterminé par un comptage du nombre d'épis produit dans une surface de 1m<sup>2</sup> pour chaque parcelle élémentaire.

### **b- Le nombre de grains par épi (NG/E)**

Le nombre est la moyenne du comptage de grains de 10 épis prélevés aléatoirement de chaque parcelle élémentaire.

### **c- Le poids de mille grains (PMG)**

Après la récolte, 1000 grains ont été comptés pour chaque parcelle élémentaire à l'aide d'un compteur automatique ensuite pesés à l'aide d'une balance de précision. Il est exprimé en gramme.

### **d- Le rendement (Rdt)**

Après la récolte de chaque parcelle élémentaire, et grâce à une moissonneuse batteuse, le rendement en grains est déterminé en gramme (q/ha).

## **II.7 Analyse statistique**

Le logiciel SPSS 10.0 (version 26.0 IF006x86x84) a été utilisé pour réaliser toutes les analyses de la variance (ANOVA). Pour chaque paramètre étudié, les résultats ont été exprimés sous forme de moyenne  $\pm$  erreur standard, les différences entre les moyennes des échantillons analysés ont été comparées par le test de Newman-Keuls au seuil de signification de 5%. L'analyse en composantes principales (ACP) a été également faite pour montrer la dispersion des facteurs et variables étudiés.

## Chapitre II : Matériel et méthodes

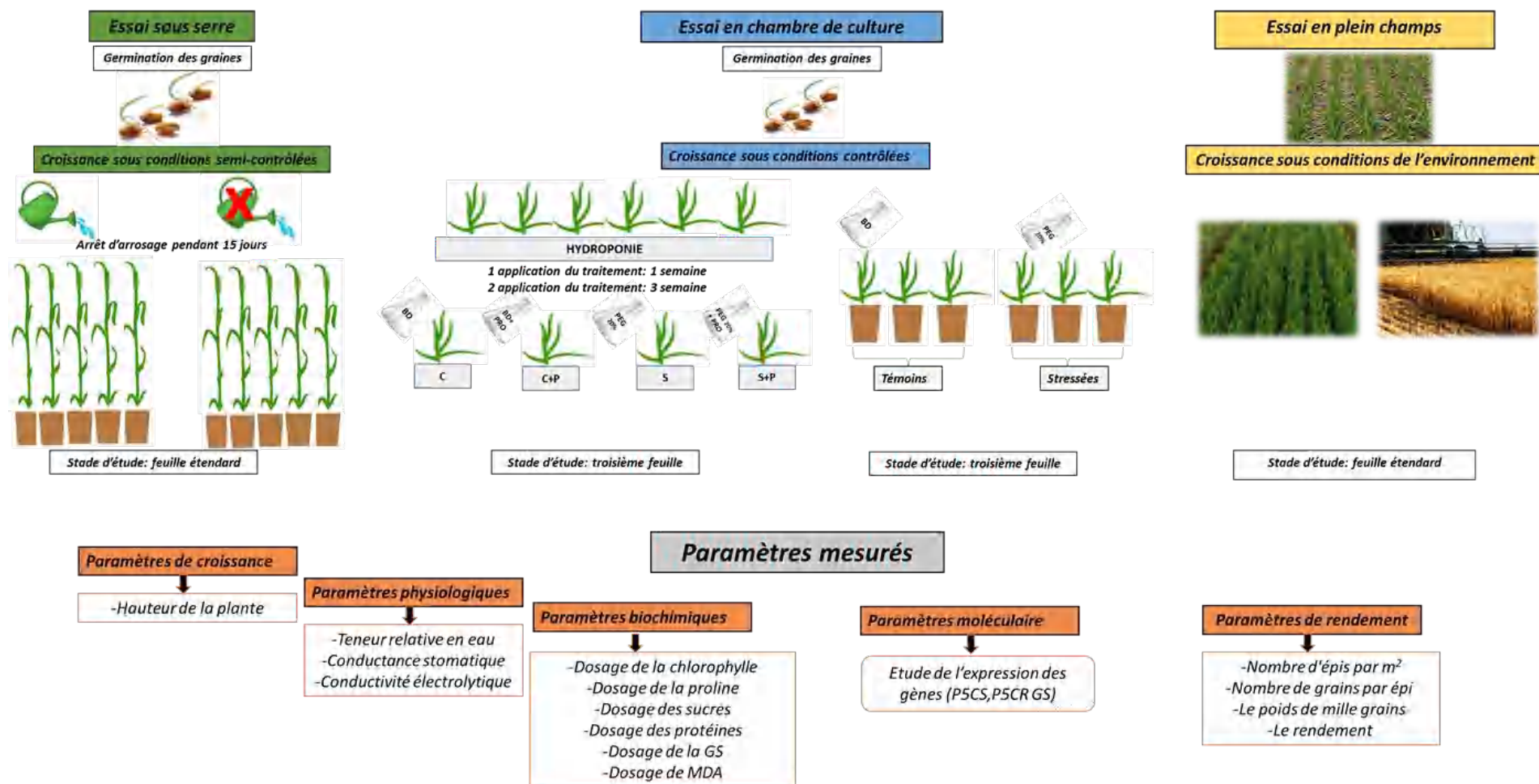


Figure 14 : Schéma récapitulatif des expérimentations

***Chapitre III:  
Résultats et Discussion***

**Première expérimentation :**

*Evaluation de la réponse physiologique et biochimique  
de quelques variétés de blé dur soumises au stress  
hydrique*



## **1 . Introduction**

Le stress hydrique est l'un des facteurs abiotiques les plus préjudiciables à travers le monde. Il peut gravement entraver la production des cultures agricoles (Zhao *et al.*, 2020). Quand la sécheresse survient pendant la période de croissance du blé, elle peut affecter considérablement son rendement et peut facilement entraîner une insécurité alimentaire. Au moment où une zone géographique est touchée par la pénurie d'eau, les plantes en subissent les conséquences. Ces dernières affectent plusieurs aspects physiologiques de la plante tels que la conductance stomatique, la surface foliaire et la température du couvert végétale. Aussi la transpiration et la photosynthèse sont pénalisées.

L'apparition du stress hydrique conditionne le fonctionnement du statut hydrique de la plante et passe progressivement par des étapes (Rampino *et al.*, 2006). La première étape est caractérisée principalement par le maintien d'un bon statut hydrique ainsi que d'une transpiration normale, vu que la plante dispose des réserves d'eau du sol. Une fois ces dernières sont épuisées à 50%, le niveau hydrique d'absorption racinaire décroît et la demande climatique n'est plus satisfaite. Cette deuxième étape se détermine par un potentiel réduit de la transpiration et du statut hydrique. Cependant, la plante réagit par des mécanismes adaptatifs notamment la régulation stomatique ainsi que l'ajustement de son système métabolique afin de minimiser ses pertes en eau. Le stress hydrique induit des changements, non seulement, dans la physiologie des plantes, mais aussi dans un certain nombre de processus morphologiques et biochimiques, ce qui se répercute sur la croissance et le développement de la plante (Farkas *et al.*, 2020).

En effet, quelle que soit la disponibilité de l'eau, Les réponses des plantes varient selon l'intensité, la durée et le stade d'application du stress (Tardieu, 2012), mais également selon les espèces et les génotypes étudiés. La tolérance à la sécheresse d'une plante est liée à sa capacité de capter l'eau du sol et de l'utiliser le plus efficacement possible (Richards *et al.*, 2010). Comprendre comment les plantes réagissent aux conditions de déficit hydrique dans le but de sélectionner des génotypes tolérants au stress est un objectif majeur pour maintenir le rendement des cultures (Oneto *et al.*, 2016).

L'objectif de cette première expérimentation est d'effectuer une caractérisation des réponses physiologiques et biochimiques adoptées par les dix variétés de blé dur soumises à une contrainte hydrique suite à un arrêt d'arrosage pendant 15 jours dans des conditions semi contrôlées, en mettant l'accent sur les paramètres physiologiques pour évaluer l'état hydrique des

*Première expérimentation : Evaluation de la réponse physiologique et biochimique de quelques variétés de blé dur soumises au stress hydrique.*

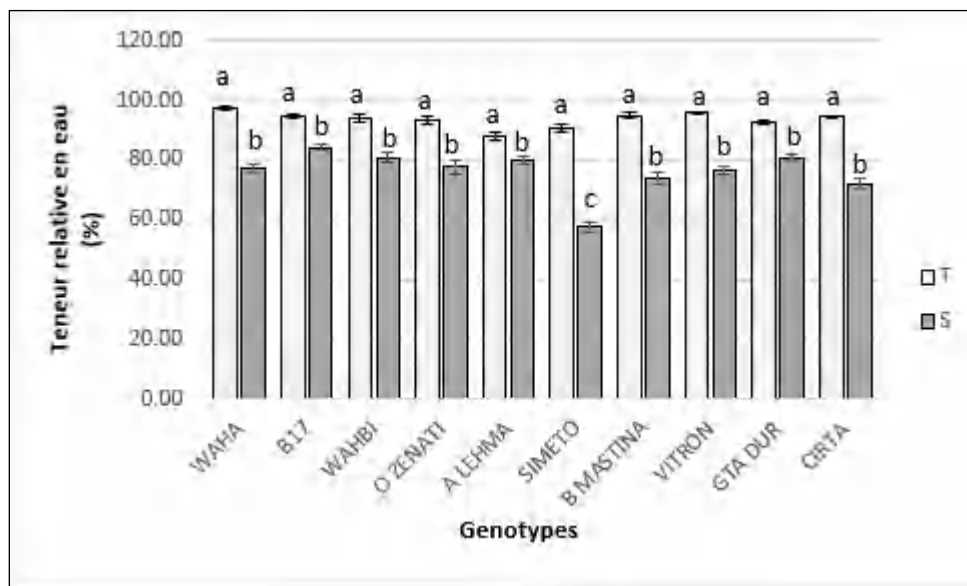
plantes (TRE, conductance stomatique, teneur relative en eau), l'accumulation d'osmolytes (proline, sucres et glutamine synthétase) et les marqueurs du stress oxydatif (teneur en MDA et taux de fuite d'électrolytes).

## 2. Résultats

### 2.1 Effets du stress hydrique induit par un arrêt d'arrosage sur l'état hydrique des plantes

#### 2.1.1 Evaluation de la teneur relative en eau (TRE)

La teneur relative en eau est considérée comme un indicateur physiologique important et direct de l'état hydrique de la plante. Dans les conditions contrôlées de notre expérimentation, l'ensemble des géotypes étudiés marquent les meilleures valeurs de TRE qui varient de 97.37% chez la variété Waha à 88,03% pour la variété Ain lehma (Figure 15). Cependant, Au terme de deux semaines de déficit hydrique, une diminution remarquable et significative ( $p < 0,05$ ) de la TRE est enregistrée chez l'ensemble des variétés. Elle varie entre (84.11%) pour la variété Bidi 17 et (55.6%) pour la variété Simeto. Toutefois, cette diminution demeure variable entre les géotypes. Les variétés Bidi 17, Wahbi et Ain lehma ont maintenu une TRE élevée en conditions de stress hydrique, cela reflète leurs capacités à limiter les pertes en eau et à maintenir un statut hydrique favorable.

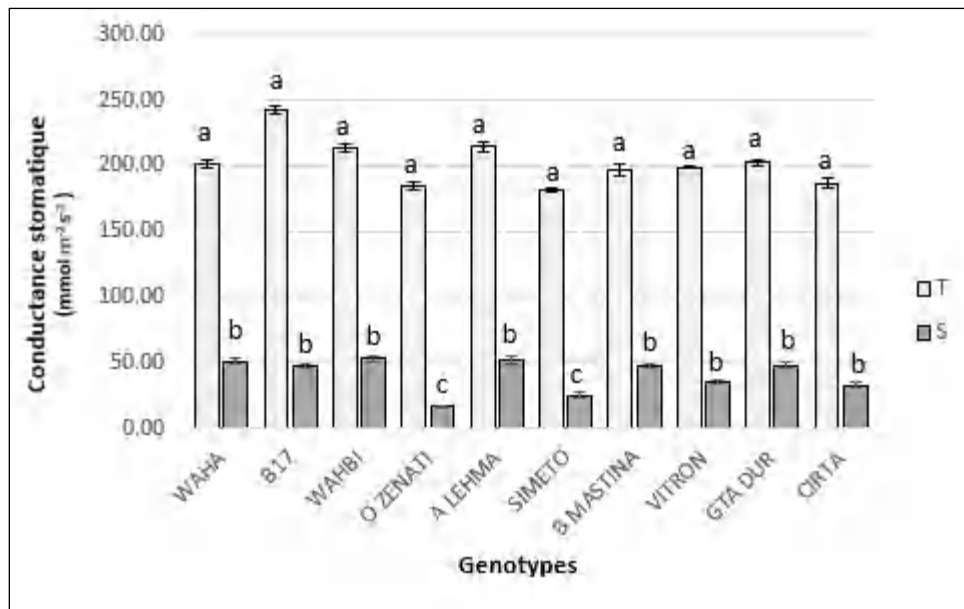


**Figure 15** : Evaluation de la teneur relative en eau (TRE) dans les feuilles des 10 variétés de blé dur sous condition contrôle (T) et sous condition de stress (S).

Les valeurs indiquent la moyenne  $\pm$ SD (n=3). Les différentes lettres alphabétiques révèlent des différences significatives à  $p < 0,05$  selon le test de Student-Newman-Keuls.

### 2.1.2 Evaluation de la conductance stomatique

La conductance stomatique fait partie des paramètres essentiels pour évaluer le statut hydrique de la plante et représente un indicateur du taux de transpiration foliaire. Pour les plantes témoins, la conductance est de l'ordre de 181.40  $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  chez la variété Simeto comme valeur minimale et de 242.80  $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  pour la variété Bidi 17 comme valeur maximale. (Figure 16), reflétant une transpiration favorable en raison d'une bonne hydratation. En effet, la conductance stomatique diminue de manière significative ( $p < 0,05$ ) suite à un arrêt d'arrosage, indiquant ainsi une réduction de la transpiration due à la carence d'eau d'où les valeurs enregistrées sont de l'ordre 53.33 et 25.18  $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  pour les variétés Wahbi et Simeto respectivement. Les génotypes Wahbi, Waha et Ain lehma se caractérisent par une conductance stomatique supérieure aux autres, cela reflète une meilleure aptitude à maintenir les stomates ouverts malgré la contrainte hydrique.



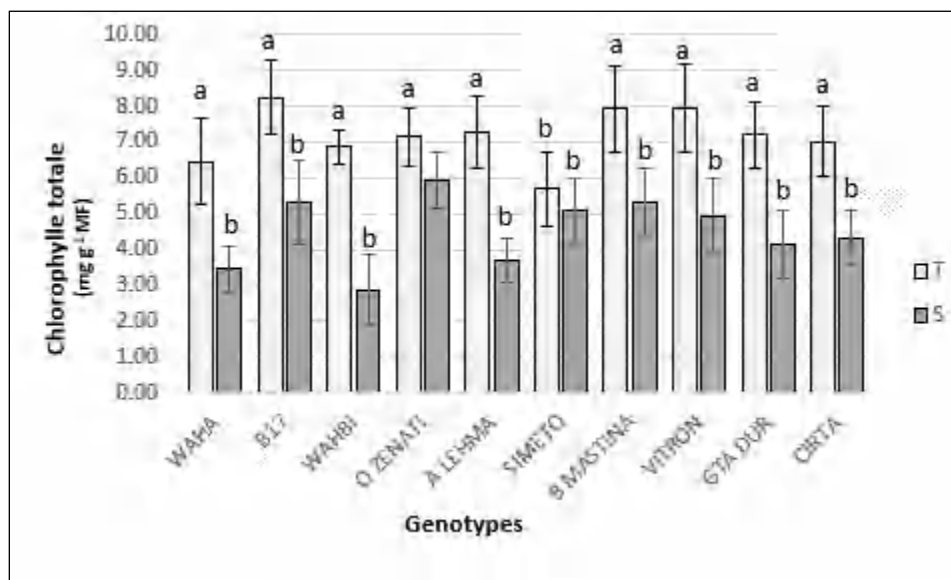
**Figure 16 :** Evaluation de la conductance stomatique dans les feuilles des 10 variétés de blé dur sous condition contrôle (T) et sous condition de stress (S).

Les valeurs indiquent la moyenne  $\pm$ SD (n=3). Les différentes lettres alphabétiques révèlent des différences significatives à  $p < 0,05$  selon le test de Student-Newman-Keuls.

### 2.1.3 Evaluation de La teneur en chlorophylle

La teneur en chlorophylle totale présente des variations en fonction des conditions d'irrigation. Les feuilles des plantes contrôles enregistrent un taux de chlorophylle élevé par rapport aux plantes stressées (Figure 17). Cependant, l'arrêt de l'arrosage a influencé négativement et significativement la teneur en chlorophylle de l'ensemble des plantes étudiées. Les pertes en chlorophylle les plus élevées sont observées chez les génotypes Wahbi (58%) et Ain lehma (48%).

Première expérimentation : Evaluation de la réponse physiologique et biochimique de quelques variétés de blé dur soumises au stress hydrique.



**Figure 17** : Evaluation de la teneur en chlorophylle totale dans les feuilles des 10 variétés de blé dur sous condition contrôle (T) et sous condition de stress (S).

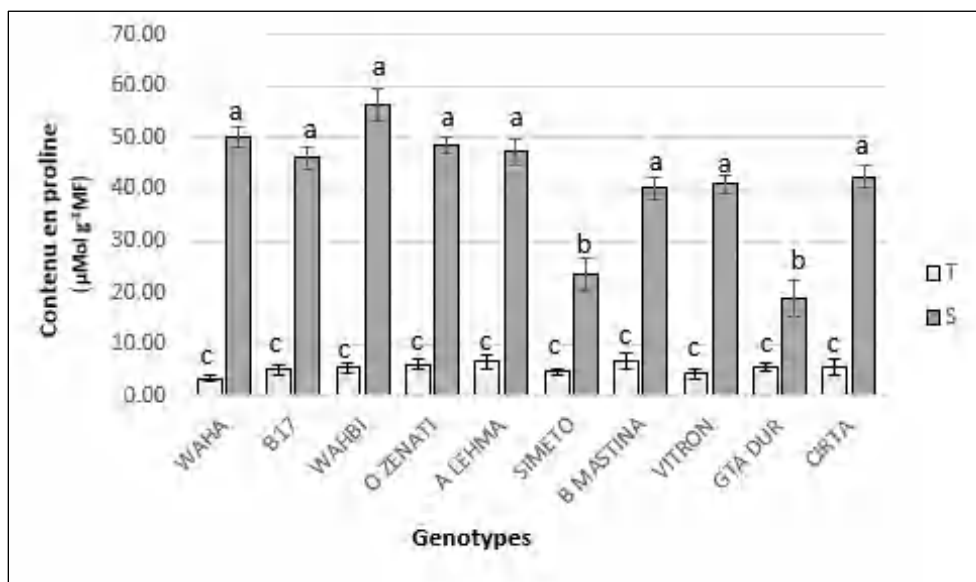
Les valeurs indiquent la moyenne  $\pm$ SD (n=3). Les différentes lettres alphabétiques révèlent des différences significatives a  $p < 0,05$  selon le test de Student-Newman-Keuls.

## 2.2 Effets du stress hydrique induit par un arrêt d'arrosage sur l'accumulation d'osmoprotectants

### 2.2.1 Evaluation de la teneur en proline

La proline et les sucres solubles sont considérés comme des osmoprotecteurs et des indicateurs biochimiques importants de la tolérance au stress chez les plantes. Leur accumulation par les tissus végétaux dans des conditions de déficit hydrique est une réponse adaptative étayée par plusieurs études. En conditions contrôles, les génotypes étudiés présentent des valeurs de la teneur en proline comprises dans l'intervalle (6.86-4.26  $\mu\text{Mol g}^{-1}\text{MF}$ ). Des valeurs qui restent plus faibles comparé au teneurs enregistrées dans des conditions déficitaires. Au terme de deux semaines de déficit hydrique, une nette augmentation hautement significative de la teneur en proline est observée chez l'ensemble des génotypes (Figure 18). Elle est significativement plus importante chez les génotypes Waha et Wahbi.

Première expérimentation : Evaluation de la réponse physiologique et biochimique de quelques variétés de blé dur soumises au stress hydrique.



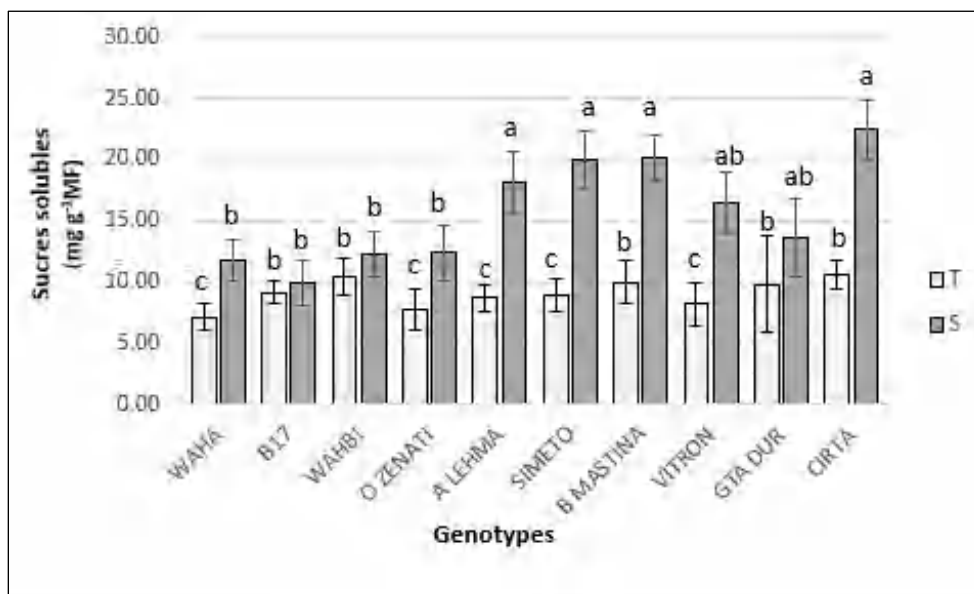
**Figure 18 :** Evaluation de la teneur en proline dans les feuilles des 10 variétés de blé dur sous condition contrôle (T) et sous condition de stress (S).

Les valeurs indiquent la moyenne  $\pm$ SD (n=3). Les différentes lettres alphabétiques révèlent des différences significatives à  $p < 0,05$  selon le test de Student-Newman-Keuls.

### 2.2.2 Evaluation de la teneur en sucres solubles

L'évolution de la teneur en sucres, en situation de confort et restriction hydrique, pour les différentes variétés étudiées sont indiquées sur la figure 19. En conditions contrôles, les plantes témoins affichent des teneurs en sucres plutôt basses et variables, les valeurs enregistrées varient entre 7.14 mg g<sup>-1</sup>MF et 10.66 mg g<sup>-1</sup>MF dont la valeur maximale est enregistrée chez le génotype Waha alors que la valeur minimale est marquée chez le génotype Cirta. Par contre, une accumulation accrue ( $p < 0,05$ ) des sucres solubles dans les feuilles de l'ensemble des génotypes étudiés a été enregistrée en condition stressante, elle est significativement plus élevée chez les variétés Cirta, B mestina et Vitron. Cependant les variétés Bidi 17 et Wahbi font l'exception est aucune augmentation significative dans la teneur en sucre n'a été enregistrée.

Première expérimentation : Evaluation de la réponse physiologique et biochimique de quelques variétés de blé dur soumises au stress hydrique.



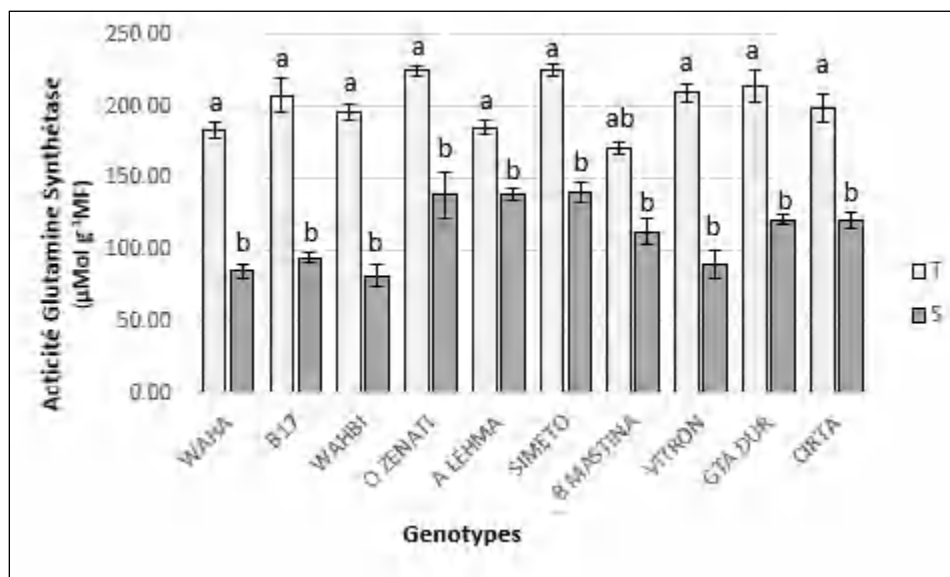
**Figure 19 :** Evaluation de la teneur en sucre soluble dans les feuilles des 10 variétés de blé dur sous condition contrôle (T) et sous condition de stress (S).

Les valeurs indiquent la moyenne  $\pm$ SD (n=3). Les différentes lettres alphabétiques révèlent des différences significatives à  $p < 0,05$  selon le test de Student-Newman-Keuls.

### 2.2.3 Evaluation de l'activité de glutamine synthétase (GS)

La glutamine synthétase est un indicateur potentiel de l'état nutritionnel des plantes. Cette enzyme est codée par un certain nombre de gènes qui sont principalement régulés par la disponibilité de l'azote, mais aussi en réponse au stress. L'activité de la glutamine synthétase a considérablement diminuée ( $p < 0,05$ ) dans les feuilles de blé soumises au stress hydrique (figure 20). Les plus faibles activités ont été enregistrées chez les génotypes Wahbi, Vitron et B17 avec des taux de réduction de 57.85%, 56.85%, 53.78% respectivement.

Première expérimentation : Evaluation de la réponse physiologique et biochimique de quelques variétés de blé dur soumises au stress hydrique.



**Figure 20 :** Evaluation de l'activité de la glutamine synthétase (GS) dans les feuilles des 10 variétés de blé dur sous condition contrôle (T) et sous condition de stress (S). Les valeurs indiquent la moyenne  $\pm$ SD (n=3). Les différentes lettres alphabétiques révèlent des différences significatives à  $p < 0,05$  selon le test de Student-Newman-Keuls

## 2.3 Effets du stress hydrique induit par un arrêt d'arrosage sur les marqueurs du stress oxydatif

### 2.3.1 Evaluation de la teneur en malondialdéhyde (MDA) et la libération relative d'électrolytes

La concentration en MDA dans les cellules traduit le niveau de peroxydation des lipides membranaires ; donc l'impact du stress oxydatif. Si les différences des teneurs en MDA sont peu perceptibles chez les génotypes témoins, où la concentration varie de 18.11 (nmol g<sup>-1</sup> MF) chez Vitron à 36.43 (nmol g<sup>-1</sup> MF) chez Wahbi; elles deviennent plus importantes et significatives ( $p < 0,05$ ) en conditions déficitaires (Tableau 04). L'accumulation maximale de MDA est enregistrée chez les génotypes Vitron, GTA dur et Simeto indiquant des dommages oxydatifs de la membrane.

Quant au variétés Bidi 17 et Wahbi enregistrent des valeurs minimales dans la production de MDA, On peut en déduire que ces variétés sont plus tolérantes aux lésions causées par le stress oxydatif.

La résistance membranaire au stress hydrique a été étudiée suite à une évaluation de l'intégrité membranaire par mesure de la conductivité électrique. Cette dernière est proportionnelle au degré de dommage et altération de la membrane cellulaire induite par les flux d'électrolytes. En condition déficitaire, le taux d'électrolytes augmente chez les 10 variétés testées et diffère significativement ( $p < 0,05$ ) d'une variété à une autre (Tableau 04) et semble être plus conséquent

*Première expérimentation : Evaluation de la réponse physiologique et biochimique de quelques variétés de blé dur soumises au stress hydrique.*

chez les génotypes GTA dur, OZ et Simeto avec des valeurs maximales de 17.88%, 17.17% et 16.43% contrairement aux variétés A lehma, Bidi 17 et Wahbi qui enregistrent des valeurs minimales, ce qui indique que la membrane cellulaire chez ces derniers a subi moins de lésions.

**Tableau 04 :** Concentration du malondialdéhyde (MDA) et libération relative d'électrolytes (EL) dans les feuilles des 10 variétés de blé dur sous condition contrôle (T) et sous condition de stress (S).

Variétés	MDA (nmol g <sup>-1</sup> MF)			EL (%)		
	Traitement					
	Témoin	Stress hydrique	% de changement	Témoin	Stress hydrique	% de changement
Waha	18.7 ± 1.47 <sup>d</sup>	40.93 ± 1.81 <sup>c</sup>	118.89	6.53 ± 0.54 <sup>c</sup>	14.07 ± 0.91 <sup>b</sup>	115.41
B17	3.97 ± 2.31 <sup>c</sup>	34.77 ± 1.37 <sup>c</sup>	12.27	8.15 ± 0.93 <sup>c</sup>	11.18 ± 1.06 <sup>b</sup>	37.18
Wahbi	36.43 ± 3.61 <sup>c</sup>	40.97 ± 1.35 <sup>c</sup>	12.44	7.88 ± 0.86 <sup>c</sup>	12.23 ± 1.07 <sup>b</sup>	55.16
O zenati	23.77 ± 3.28 <sup>d</sup>	59.83 ± 3.45 <sup>b</sup>	151.75	6.6 ± 0.33 <sup>c</sup>	16.43 ± 0.96 <sup>a</sup>	148.99
A lehma	25.43 ± 3.19 <sup>d</sup>	64.83 ± 4.44 <sup>b</sup>	154.89	7.62 ± 0.53 <sup>c</sup>	13.01 ± 1.01 <sup>b</sup>	70.54
Simeto	28.43 ± 1.50 <sup>d</sup>	87.77 ± 2.66 <sup>a</sup>	208.68	7.44 ± 0.81 <sup>c</sup>	17.88 ± 1.49 <sup>a</sup>	140.37
B mestina	21.17 ± 3.45 <sup>d</sup>	38.53 ± 1.50 <sup>c</sup>	82.05	7.85 ± 0.75 <sup>c</sup>	12.8 ± 0.41 <sup>b</sup>	62.96
Vitron	18.11 ± 2.46 <sup>d</sup>	74.84 ± 4.07 <sup>a</sup>	313.25	6.15 ± 0.95 <sup>c</sup>	15.1 ± 1.15 <sup>b</sup>	145.53
GTA dur	28.2 ± 1.06 <sup>d</sup>	94.38 ± 2.10 <sup>a</sup>	234.67	7.8 ± 0.91 <sup>c</sup>	17.17 ± 0.76 <sup>a</sup>	119.99
Cirta	30.4 ± 1.51 <sup>d</sup>	81.57 ± 3.53 <sup>a</sup>	168.33	8.1 ± 0.96 <sup>c</sup>	16.88 ± 0.51 <sup>a</sup>	108.22

Les valeurs indiquent la moyenne ±SD (n=3). Les différentes lettres alphabétiques révèlent des différences significatives à  $p < 0,05$  selon le test de Student-Newman-Keuls.

## 2.4 Relation entre les paramètres physiologiques et biochimiques étudiés

Dans le but de résumer les résultats obtenus sur des plantes de blé dur, suite aux analyses physiologiques et biochimiques et mettre en relief les corrélations existantes entre les différentes variables mesurées, une matrice de corrélation est présentée dans le Tableau 05.

**Tableau 05 :** Matrice de corrélation de Pearson des variables mesurées des 10 génotypes de blé dur

Variables	TRE	Cs	SUCRES	PROLINE	GS	CHL	MDA	EL
TRE	1	0.872***	-0.849***	-0.695***	0.705***	0.692***	-0.799***	-0.906***
Cs		1	-0.746***	-0.892***	0.874***	0.832***	-0.765***	-0.917***
SUCRES			1	0.599***	-0.587***	-0.592***	0.777***	0.798***
PROLINE				1	-0.898***	-0.819***	0.504***	0.732***
GS					1	0.809***	-0.570***	-0.769***
CHL						1	-0.631***	-0.731***
MDA							1	0.921***
EL								1

ns : non significative, \* : significative ( $p < 0,05$ ), \*\* : hautement significative ( $p < 0,01$ ), \*\*\* : très hautement significative



*Première expérimentation : Evaluation de la réponse physiologique et biochimique de quelques variétés de blé dur soumises au stress hydrique.*

Afin de mieux visualiser les interactions entre les différents paramètres étudiés et les relations existantes entre les réponses génotypiques pour les différents traitements imposés, nous avons eu recours à l'analyse en composantes principales (ACP). Les corrélations entre les variables mesurées avec les axes F1 et F2 expliquent respectivement, 79.23 et 10.79 % soit un total de 90.03% d'information (Figure 21 A).

L'axe F1 est exprimé vers son pôle positif par la majorité des paramètres physiologiques, teneur relative en eau élevée, forte conductance stomatique, teneur en chlorophylle total élevée et activité de glutamine synthétase réduite qui sont bien représentés et montrent de fortes corrélations positives reflétant un bon état hydrique de la plante. De son côté négatif figure la teneur en proline qui est corrélé négativement et assez fortement avec les paramètres physiologiques. D'autre part, L'axe F2 est formé par la teneur en MDA, teneur en sucres et EL.

Cette répartition des variables selon les axes permet de caractériser les génotypes étudiés et groupés en individus qui se ressemblent plus au moins sur la base d'une ou de plusieurs variables mesurées.

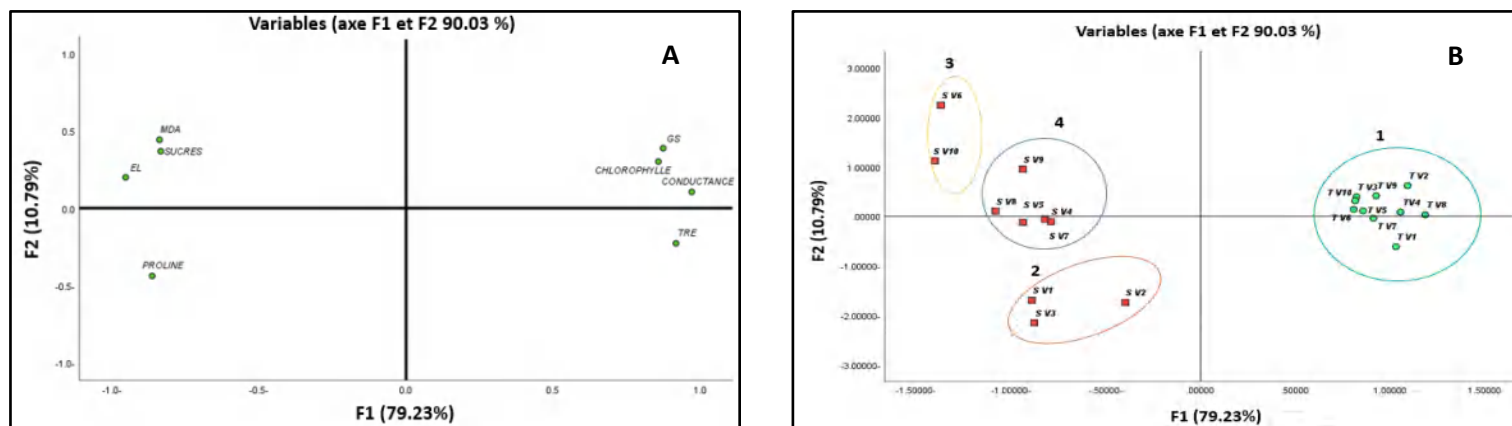
Les résultats, de l'ACP ont généré quatre groupes distincts des génotypes (Figure 21 B). En examinant de plus près les projections des individus, on constate que le premier groupe est composé de toutes les variétés témoins, ces dernières sont caractérisées par une teneur relative en eau et en chlorophylle élevée, une forte conductance stomatique et une activité de glutamine synthétase réduite. Ce résultat paraît évident pour des caractères des plantes en conditions de bonne hydratation et reflétant un bon statut hydrique de la plante.

Le deuxième groupe composé de trois variétés (Waha, Bidi 17 et Wahbi), s'est caractérisé par un taux de teneur en proline élevée, indiquant une grande capacité d'ajustement osmotique en conditions limitante en eau.

Le troisième groupe composé de deux variétés (Simeto et Cirta) est fortement déterminé par des marqueurs de stress oxydatifs ; une teneur en MDA importante et un taux de fuite d'électrolytes élevé, ce qui pourrait s'expliquer par une plus forte peroxydation lipidique chez ces variétés en conditions de stress hydrique. Par contre, ces variétés présentent une accumulation accrue des sucres, la production des sucres solubles sous forme d'osmolytes est une autre méthode d'acclimatation vers l'ajustement osmotique en condition de déficit hydrique.

*Première expérimentation : Evaluation de la réponse physiologique et biochimique de quelques variétés de blé dur soumises au stress hydrique.*

Le quatrième groupe englobe les variétés (A. lehma, Beni mestina, GTA dur, Oued zenati et Vitron) qui expriment des phénotypes intermédiaires caractérisés principalement par des valeurs moyennes des paramètres biochimiques étudiés.



**Figure 21 :** Représentation descriptive par analyse en composantes principales (ACP) des valeurs des paramètres physiologiques et biochimiques suite à un stress hydrique.

**A :** présentation des corrélation entre les variables ; **B :** répartition des génotypes sur la carte factorielle.  
 v1 : waha ; v2 : B17 ; v3 : wahbi ; v4: A lehma ; v5: OZ ; v6: Simeto ; v7: B mestina ; v8: vitron ; v9: GTA dur ; v10 : cirta

### 3 . Discussion

Face au stress hydrique, différentes réponses sont mises en jeu par la plante afin de contrecarrer les effets de cette contrainte. Ces réponses sont complexes, car elles vont intervenir à différents niveau d'organisation, aboutissant à des changement morphologiques, physiologiques, biochimiques et moléculaires. Dans cette étude, les effets du stress hydrique imposé par un arrêt d'arrosage sur la réponse des variétés de blé dur ont été évalués en étudiant des traits physiologiques et biochimiques, les résultats obtenus révèlent des différences dans le comportement des génotypes étudiés vis-à-vis la contrainte hydrique.

La diminution de la disponibilité en eau dans l'environnement engendre une perturbation du statut hydrique de la plante. La teneur relative en eau et la conductance stomatique font parties des paramètres qui déterminent le statut hydrique du végétal. La TRE reflète l'équilibre entre l'approvisionnement en eau des tissus foliaires et le taux de transpiration. Dans notre étude, la TRE et la conductance stomatique ont évolué dans le même sens ( $r = 0.827$ ) et se sont révélées sensibles au stress hydrique. Toutefois, la diminution de la TRE demeure variable entre les génotypes et cette variation pourrait être le résultat de l'aptitude des génotypes à extraire l'eau du sol par les racines,

*Première expérimentation : Evaluation de la réponse physiologique et biochimique de quelques variétés de blé dur soumises au stress hydrique.*

ou soit à leur capacité à réguler les pertes en eau par transpiration, ou encore la capacité de maintenir une TRE élevée est le résultat de l'accumulation des métabolites qui favorise le maintien de la turgescence cellulaire et les activités physiologiques.

Ce résultat qui paraît évident est confirmé par plusieurs travaux sur le blé qui ont rapporté une réduction de la TRE en conditions de déficit hydrique (Ykhlef et Djekoun, 2000 ; Melloul *et al.*, 2014) et que les variétés qui maintiennent des teneurs foliaires relatives en eau élevées sont considérées comme étant des variétés résistantes à la sécheresse (habash *et al.*, 2014). Parmi les réponses précoces à la contrainte hydrique, la limitation de l'ouverture des stomates afin de préserver l'eau dans les tissus foliaires, cette limitation a induit une diminution importante de la conductance stomatique qui est une variable physiologique indicatrice de la résistance des espèces vis-à-vis d'un stress hydrique. Bousba *et al.*, 2013 ; Olsovska *et al.*, (2016) ainsi que Ostrowska, et Hura (2022) ont également rapporté un effet significatif du stress hydrique sur la réduction de la conductance stomatique chez le blé.

Une baisse non négligeable de la teneur en chlorophylle a été observée chez l'ensemble des variétés étudiées suite à un arrêt d'arrosage. La teneur en chlorophylle est corrélée positivement et significativement avec la TRE et la conductance stomatique ( $r = 0.692$  ;  $r = 0.832$ ). En effet, la réduction de l'ouverture des stomates constaté a provoqué une réduction de l'assimilation du CO<sub>2</sub>, donc une perturbation du métabolisme carboné, d'où une réduction de l'activité photosynthétique (Salam *et al.*, 2019). Une autre explication prononcée par Parwata *et al.*, (2013), est que la diminution de la concentration des pigments photosynthétiques est le résultat de l'effet du stress hydrique sur la réduction de l'assimilation de l'azote via le sol étant donné que l'azote est un composant essentiel dans la formation de la chlorophylle. Les résultats illustrés dans le tableau 05 montrent une certaine proportionnalité, mais inverse entre les teneurs en proline et la teneur en chlorophylle ( $r = -0.819$ ), ces résultats suggèrent l'existence d'une connexion vraisemblable entre les voies de biosynthèse des pigments chlorophylliens et de la proline. Une compétition entre ces deux composés sur leur précurseur commun, le glutamate, peut être à l'origine de cette évolution.

De plus, une diminution de la teneur en chlorophylle est considérée comme étant un symptôme typique du stress oxydatif dû à la photooxydation des pigments, d'une dégradation et ou d'une synthèse déficiente de chlorophylle.

*Première expérimentation : Evaluation de la réponse physiologique et biochimique de quelques variétés de blé dur soumises au stress hydrique.*

Plusieurs études ont signalé des dommages dans les pigments photosynthétiques en condition de déficit hydrique chez plusieurs espèces végétales y compris le blé (Bousba *et al.*, 2013 ; Yasir *et al.*, 2013 ; Kalaji *et al.*, 2016). La photosynthèse joue un rôle majeur dans la croissance et le rendement des plantes cultivées. La variation des pigments photosynthétiques est le principal indicateur du taux de photosynthèse chez les plantes cultivées sous déficit hydrique (Salam *et al.*, 2019), ce qui fait de ce paramètre, un critère important pour l'identification des génotypes tolérants à la sécheresse.

La répartition des génotypes sur la carte factorielle (figure 21 B) reflète le maintien d'un bon état hydrique des plantes témoins d'où ils forment un seul groupe.

Il est connu que l'accumulation de la proline est un moyen adopté par les plantes en cas de stress, elle est impliquée dans divers processus physiologiques et biochimique de la plante, en particulier l'ajustement osmotique (comme évoqué dans le chapitre synthèse bibliographique). Les résultats obtenus dans notre étude, montrent que l'effet du stress hydrique sur l'accumulation de cet osmoticum se traduit par une augmentation significative chez les 10 variétés étudiées. Une corrélation négative et hautement significative est enregistrée entre la teneur en proline et TRE ( $r = - 0.695$ ) ; chlorophylle ( $r = - 0.819$ ) et Cs ( $r = - 0.898$ ) (tableau 05). Ce qui explique le pouvoir d'ajustement osmotique en condition de stress.

La biosynthèse de la proline est un trait qui est couramment cité et étudié dans la réponse des plantes au stress hydrique (Ghosh *et al.*, 2022). Des résultats similaires concernant l'augmentation de l'accumulation de la proline en conditions déficitaires ont été rapportés par Wang *et al.*, (2019) sur des variétés de blé, ou l'auteur a annoncé que l'accumulation de la proline est significativement plus élevée chez les cultivars tolérants à la sécheresse que chez les cultivars sensibles. Aussi Nasrin, *et al.*, (2020) ont révélé l'accumulation de la proline en condition de stress chez le riz et, Dien *et al.*, (2019) suggèrent que l'accumulation de la proline peut être utilisée comme indicateur utile du potentiel de tolérance à la sécheresse chez la culture du riz.

L'accumulation de la proline induite par le stress pourrait être le résultat de trois processus complémentaires : stimulation de sa synthèse, inhibition de son oxydation et ou altération de la biosynthèse des protéines (Ghosh *et al.*, 2022). L'analyse de l'ACP (Figure 21 B) indique que le deuxième groupe composé de trois variétés (Waha, Bidi 17 et Wahbi), s'est caractérisé par un taux de teneur en proline élevé, indiquant une grande capacité d'ajustement osmotique en conditions limitante en eau.

*Première expérimentation : Evaluation de la réponse physiologique et biochimique de quelques variétés de blé dur soumises au stress hydrique.*

D'autres formes d'osmolytes accumulés en condition déficitaire dont les sucres solubles jouent un rôle important dans l'ajustement osmotique et interviennent dans la limitation des pertes d'eau en favorisant la rétention d'eau dans la plante et, ainsi, l'adaptation des plantes au stress (Farooq *et al.*, 2014). La teneur en proline et sucres est corrélée positivement ( $r = 0.599$ ), ce qui indique que les plantes en conditions de stress ont adopté une stratégie de tolérance par l'ajustement osmotique en accumulant des sucres, l'augmentation de cet osmoticum chez l'ensemble des variétés étudiées à des taux variés, corrobore les résultats de (Dien *et al.*, 2019 ; Sperdouli et Moustakas, 2012) qui notent une augmentation importante de cet osmoticum en condition de sécheresse. L'augmentation de la quantité de sucres dans les tissus des plantes peut réduire considérablement le potentiel osmotique des cellules et ainsi jouer un rôle dans les processus d'osmorégulation en cas de sécheresse, cette accumulation peut avoir comme origine l'hydrolyse des réserves suite à leur conversion rapide en glucose, mais aussi à la modification du métabolisme carboné (Ozturk *et al.*, 2021). Les variétés Simeto et Cirta sont surtout caractérisées par une teneur élevée des sucres solubles, indiquant une grande capacité d'ajustement osmotique en condition de stress.

La glutamine synthétase (GS) est un indicateur potentiel de l'état nutritionnel des plantes (Bernard *et al.*, 2008). Cette enzyme est codée par un certain nombre de gènes qui sont principalement régulés par la disponibilité de l'azote (kitchy *et al.*, 2006), mais aussi par des stress abiotiques comme la sécheresse (Bernard et habsah, 2009). Nos résultats suggèrent une diminution considérable de l'activité de la Glutamine synthétase sous des conditions stressantes. D'autre part cette diminution est accompagnée par une forte augmentation de la teneur en proline ( $r = -0.898$ ), les résultats obtenus mettent en relief une certaine proportionnalité, mais inverse entre l'accumulation de la proline et l'activité de la glutamine synthétase. Nagy *et al.*, (2013) ont également évoqué une éventuelle diminution de l'activité de la glutamine synthétase (GS) dans les feuilles de blé en condition de stress hydrique, et suggèrent que l'activité de la GS était plus faible dans les feuilles des génotypes sensibles par rapport au génotypes tolérants. Aussi, ils peuvent utiliser l'activité de la GS comme marqueur pour déterminer la tolérance au stress hydrique.

La teneur en MDA reflète le niveau de la peroxydation des lipides membranaires, donc c'est un indicateur fiable des dommages oxydatifs de la membrane chez les plantes exposées au différents stress (Meena *et al.*, 2016). Le dosage des MDA est un moyen efficace pour évaluer les dommages du stress oxydatif sur la membrane. Dans notre expérimentation, l'arrêt d'arrosage a

*Première expérimentation : Evaluation de la réponse physiologique et biochimique de quelques variétés de blé dur soumises au stress hydrique.*

conduit à une augmentation très significative de la teneur en malondialdéhyde chez les génotypes étudiés, ceci peut témoigner d'une forte peroxydation des lipides suite à l'installation d'un stress oxydatif dans les feuilles et qui a provoqué une accumulation des ERO suggérant une relation entre le stress hydrique et le stress oxydatif. La peroxydation des lipides membranaires pourrait être la conséquence d'un défaut de fonctionnement du système de détoxification, qui pourrait mener aux dommages des composants cellulaires principaux (Khajeeyan *et al.*, 2019). Une telle réponse est rapportée sous l'effet du déficit hydrique chez le blé (Nasirzadeh *et al.*, 2021 ; Yan et Shi, 2013).

Le degré de dommage de l'intégrité de la structure membranaire a été estimé indirectement par la mesure du taux d'électrolytes. Nos résultats suggèrent fortement que la contrainte hydrique, peut causer une peroxydation des lipides d'autant plus que la teneur en MDA est corrélée significativement et positivement avec EL ( $r = 0.921$ ) entraînant ainsi une fluidité de la membrane et par conséquent une augmentation du taux de fuite d'électrolytes est enregistrée chez l'ensemble des génotypes étudiés. Conformément à nos résultats, les effets significatifs de la sécheresse sur la conductivité électrolytique ont été rapportés par plusieurs auteurs (Sun *et al.*, 2020 ; Bouchemal *et al.*, 2017).

Des effets similaires ont été rapportés par Valentovic *et al.*, (2016) qui ont constaté que les dommages des membranes et les fuites d'électrolytes étaient plus élevés dans les feuilles des cultivars de maïs sensibles à la sécheresse que dans celles tolérantes. Toutefois, Une faible fuite des électrolytes en conditions de stress hydrique suggéré une meilleure intégrité de la membrane et une tolérance contre le stress oxydatif (Liu *et al.*, 2011). Selon l'analyse de l'ACP (Figure 21 B), les variétés Simeto et Cirta sont fortement déterminés par des marqueurs de stress oxydatifs, une teneur en MDA importante et un taux de fuite d'électrolytes élevé, ce qui pourrait s'expliquer par une plus forte peroxydation lipidique chez ces variétés en conditions de stress hydrique.

#### **4. Conclusion**

Nos résultats révèlent clairement que le stress hydrique a engendré des troubles physiologiques et biochimiques chez l'ensemble des variétés. Une diminution importante de la teneur relative en eau, réduction de la conductance stomatique et la teneur en chlorophylle est observée, indiquant la perturbation du statut hydrique des plantes. D'autre part, une accumulation significative de la proline et des sucres est signalée chez les plantes, reflétant la mise en place d'un mécanisme adaptatifs notamment par l'ajustement de leurs systèmes métaboliques afin de limiter les effets du stress hydrique. Ces modifications sont accompagnées par une variation de la teneur

*Première expérimentation : Evaluation de la réponse physiologique et biochimique de quelques variétés de blé dur soumises au stress hydrique.*

en MDA et la fuite des électrolytes, provoquant une forte peroxydation lipidique, donc le déficit hydrique a généré un stress oxydatif dans les cellules végétales.

Il existe des fortes corrélations positives et négatives entre les paramètres physiologiques et biochimiques étudiées ainsi les marqueurs du stress oxydatif. Il a été démontré que les variétés étudiées répondent différemment aux stress hydrique. Les génotypes Waha, et Wahbi, ont montré une grande capacité à maintenir un statut hydrique élevé et une forte accumulation de proline ainsi que des dommages oxydatifs mineurs ce qui reflète une meilleure tolérance au stress hydrique.

**Deuxième expérimentation :**

*Evaluation des performances agronomiques,  
physiologiques et biochimiques des génotypes de blé dur  
en plein champs*



## **1. Introduction**

La filière céréalière constitue une des bases importantes de l'agro-alimentaire en Algérie. Toutefois, la production des céréales ne semble pas répondre favorablement aux besoins de la population. Elle est amplement limitée par les conditions de milieu au premier rang desquelles figure la sécheresse. Cette dernière déprécie les rendements et limite le potentiel de production suite aux fluctuations qui touchent surtout les cultures pluviales et plus particulièrement les céréales. En effet, en conditions pluviales, les travaux de recherche démontrent que la production du blé reste étroitement dépendante des contraintes liées aux sols, aux conditions climatiques et aux pratiques culturales. Effectivement, la variation de la production du blé est entravée par la faiblesse, l'irrégularité et le caractère souvent erratique des précipitations (Belagrouz *et al.*, 2016). Dès lors, apparaissent les divergences de réponses de génotypes de blé d'une campagne à une autre et s'expliquent par l'interférence de plusieurs paramètres. Néanmoins, le plus déterminant est celui du manque d'eau et à des stades où la plante la requiert (Chennafi *et al.*, 2006).

Tout développement de programme de sélection pour l'amélioration de production de blé dur nécessite l'acquisition des connaissances génétiques et physiologiques sur les mécanismes de la tolérance au stress. Ceci, en identifiant les caractères phénologiques, morpho physiologiques, biochimiques et agronomiques liés au rendement en conditions défavorables. Plusieurs caractères sont rapportés dans la littérature comme ayant une liaison plus ou moins étroite avec la tolérance ou les performances de rendement sous des contraintes environnementales. Parmi ces caractères, on note le nombre d'épis par mètre carré, nombre de graine par épi, le poids de 1000 grains, la teneur relative en eau et l'accumulation des osmoprotectants.

L'ajustement osmotique comme mécanisme majeur d'adaptation aux différents stress de l'environnement permet de maintenir de nombreuses fonctions physiologiques et peut intervenir à tous les stades de développement des plantes. A cet égard, la présente étude repose sur l'hypothèse que la teneur en proline peut avoir une corrélation avec le rendement et ses composantes et peut servir d'outil de dépistage pour la sélection de génotypes tolérants. De ce principe, cet essai est entrepris en vue de décrire les traits physiologiques et biochimiques des différents génotypes étudiés en conditions de plein champs durant deux années consécutives (2018-2019) et (2019 - 2020) ainsi que pour mettre en évidence d'éventuelles différences génotypiques dans l'aptitude à accumuler la proline.

## **2. Résultats et discussion**

### **2.1 Description du climat du site d'étude**

#### **2.1.1 Pluviométrie**

Durant les deux campagnes agricoles, La pluviométrie est caractérisée par une forte variation avec une répartition inter mensuelle hétérogène des pluies (Tableau 06). Pour la campagne 2018/2019, le cumul pluviométrique pour la période allant du mois de septembre au mois de juin, est de 585 mm alors la campagne 2019/2020 avait accumulé une quantité de 392.6 mm. Un écart inter campagne important de 192.8 mm est enregistré. La variabilité est aussi présente entre les mois de la campagne agricole et entre les saisons.

Pour la campagne 2018/2019, les mois d'Octobre, Janvier et Février étaient les plus pluvieux avec 165.2 mm, 130.2 mm, et 66.6 mm respectivement, alors que pour la campagne 2019/20, les mois d'Octobre, Décembre et Mars qui étaient les plus pluvieux avec 78 mm, 72.4 mm et 89 mm respectivement. Par contre, la campagne de 2019/2020 est décrite déficitaire en eau, particulièrement au cours du mois de mai (6.8 mm), coïncidant avec la période de croissance et du remplissage du grain des céréales. Alors que celui de 2018/19 est pluvieux avec 55.4 mm. Toutefois, une quantité d'eau reçue reste en fonction de l'intensité des précipitations, du stade végétatif où la plante valorise l'eau (Chennafi et *al.*, 2005).

#### **2.1.2 Température**

Le mois de janvier a été le plus frais pour les campagnes 2018/2019 et 2019/2020 avec une température minimale journalière moyenne allant jusqu'à 8°C. Le mois de juin a été le plus chaud pour la campagne 2018/2019 avec des températures allant jusqu'à 25.08°C alors que pour la campagne 2019/2020, le mois de septembre est le plus chaud avec une température moyenne de 24.5 °C. La répartition de la température est bimodale.

Du mois de Décembre au mois de Mars, la température moyenne mensuelle reste inférieure à 10°C, seuil qui permet à la végétation de croître normalement pour valoriser les eaux de pluies enregistrées. La température s'élève rapidement à partir du mois d'Avril, passant de 10°C à plus de 25°C enregistrée au cours du mois de Juin. Cette augmentation coïncide avec la phase de remplissage des grains.

La variation des quantités de pluies enregistrées d'une année à l'autre, de leurs distributions et du régime des températures hivernales et printanières induit une forte variation des rendements.

*Deuxième expérimentation : Evaluation des performances agronomiques, physiologiques et biochimiques des génotypes de blé dur en plein champs*

Sous conditions pluviales, la durée de remplissage atteint rarement sa durée maximale, suite aux effets des stress climatiques qui ne permettent pas au grain d'atteindre son poids potentiel (Mekhlouf et al., 2006).

**Tableau 06** : Pluviométrie et Températures moyenne des campagnes (2018/2019) et (2019/2020) (ITGC)

Mois	Précipitation(mm)	Précipitation(mm)	T moyenne (C°)	Tmoyenne (C°)
	2018/2019	2019/2020	2018/2019	2019/2020
Septembre	10	19.8	22.52	24.5
Octobre	165.2	78	15.81	20
Novembre	10.8	44.2	11.37	12
Décembre	30.6	72.4	7.87	11.5
Janvier	130.2	18.4	5.59	8.51
Février	66.6	1.4	6.68	9.34
Mars	53.2	89	9.54	10.41
Avril	50	57.2	12.93	14.41
Mai	55.4	6.8	14.86	19.01
Juin	13.4	5.4	25.08	21.05
Cumul	<b>585.4</b>	<b>392.6</b>	/	/

## **2.2 Analyse du comportement variétal des dix variétés étudiées au cours des deux campagnes agricoles**

Les paramètres étudiés chez 10 génotypes de blé dur, soumis aux mêmes conditions environnementales, et durant les deux campagnes agricoles, ont permis de caractériser la réponse des génotypes étudiés sous les conditions climatiques de la région. Une caractérisation qui s'est portée principalement sur le niveau agronomique, morpho-physiologique et biochimique.

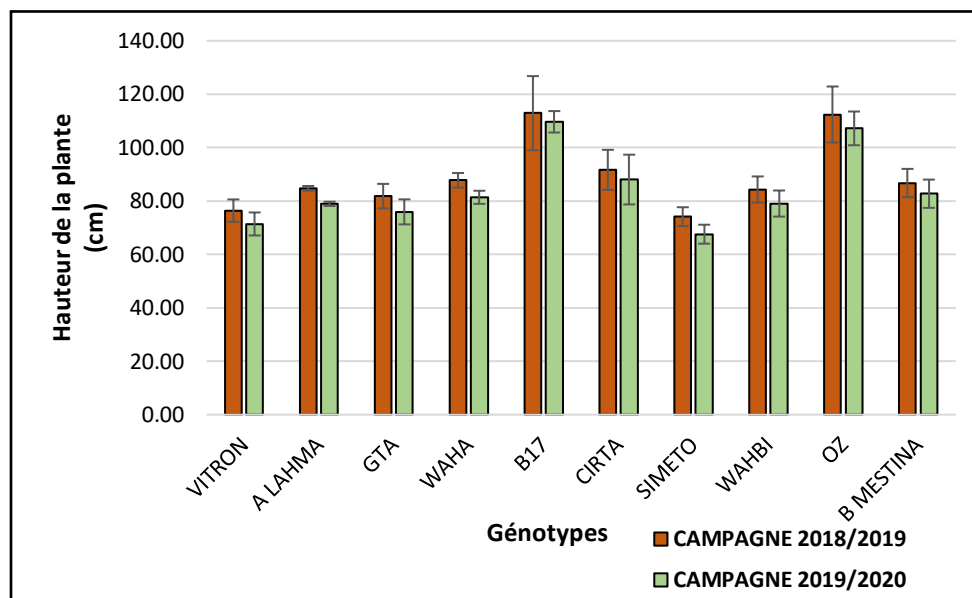
### **2.2.1 La hauteur de la plante (HP)**

L'analyse de la variance, révèle l'existence d'une différence génotypique très hautement significative, ainsi qu'un effet année significatif (Tableau 01, annexe 1).

En campagne (2018/2019), la moyenne de la hauteur de plante (HP) la plus élevée est enregistrée chez la variété B17 avec une valeur de 112.92 cm et la plus faible hauteur de 74,17 cm est notée chez la variété Simeto. Par contre, une diminution de la hauteur des plantes a été enregistrée en

*Deuxième expérimentation : Evaluation des performances agronomiques, physiologiques et biochimiques des génotypes de blé dur en plein champs*

campagne (2019/2020) avec un taux de rétrécissement de 8.89% noté chez la variété Simeto et la variété Waha a connu une réduction de 7.24% (Figure 22).



**Figure 22** : Variation de la hauteur des 10 génotypes de blé dur au cours des deux campagnes (2018-2019) et (2019-2020).

Les résultats obtenus indiquent que la hauteur de l'ensemble des variétés dans la campagne 2018-2019 s'exprime mieux que chez les variétés en campagne 2019-2020. Cette variation pourrait s'expliquer par les conditions climatiques défavorables survenues durant cette campagne, où cette dernière a connu une insuffisance et irrégularité des précipitations durant le cycle de la culture.

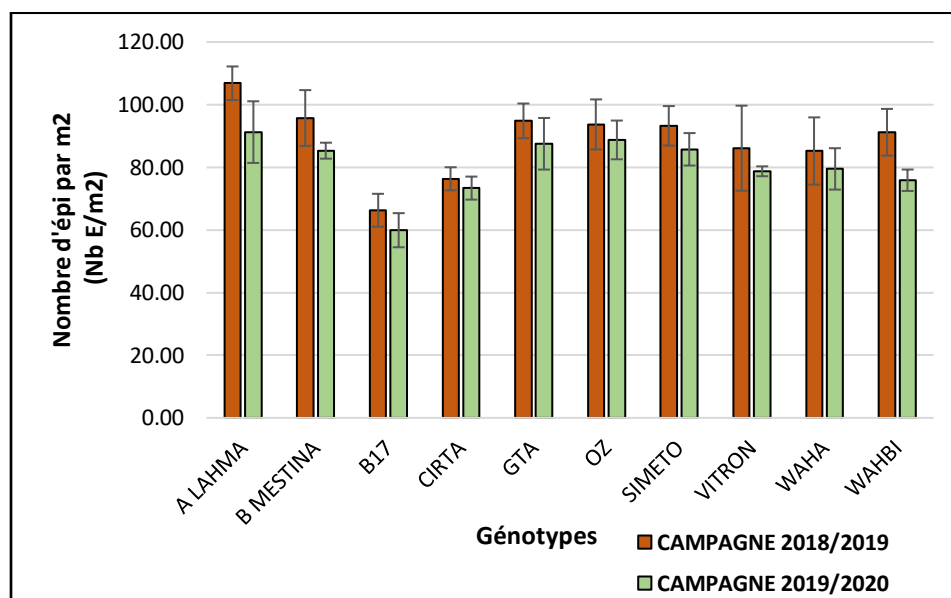
La hauteur des plantes, est un indicateur important de la croissance des cultures et de l'absorption d'azote au stade végétatif. Ce paramètre représente un trait important qui influe sur le rendement du blé et d'autres cultures (Yao *et al.*, 2011). Plusieurs auteurs cités par Allam *et al.*, 2015) suggèrent que les variétés de céréales les plus tolérantes à la sécheresse sont des variétés à pailles hautes. Selon le même auteur, cette tolérance est induite par un développement racinaire important en profondeur permettant l'extraction de l'eau des horizons profonds.

En effet, la survenue de températures printanières élevées, généralement associées à des pénuries d'eau, accélère le développement des plantes au détriment de la croissance (Bahlouli *et al.*, 2006). Il reste cependant vrai que la sélection sur la hauteur doit être appréciée en fonction de

ce qu'elle apporte en matière de tolérance au stress hydrique et thermique et en termes de rendement économique et grain (Laala *et al.*, 2013).

### 2.2.2 Nombre d'épis par mètre carré (Nb E/m<sup>2</sup>)

L'analyse de la variabilité du Nb E/m<sup>2</sup> indique un effet génotype et un effet année très hautement significatif (Tableau 2, annexe 1). La répartition de cette variable est indiquée en figure 23. La campagne 2018/2019 s'est montrée plus favorable à la production des épis. Cette figure indique que lors de la campagne 2018-2019, les valeurs notées pour Nb E/m<sup>2</sup> varient entre 106.85 et 66.30 épi/m<sup>2</sup> chez les variétés A lehma et B17 respectivement. Quant à la campagne 2019-2020, une régression importante du Nb E/m<sup>2</sup> est constatée, elle est plus importante chez la variété Wahbi qui a enregistré un taux de diminution de 12.04% par rapport à la première campagne.



**Figure 23** : Variation du nombre d'épi par m<sup>2</sup> des 10 génotypes de blé dur au cours des deux campagnes (2018-2019) et (2019-2020).

En effet, le nombre d'épis est issu à partir des talles herbacées et de la capacité de la plante à produire le nombre maximum de talles. Cette capacité dépend de l'apport hydrique et azoté de la phase qui précède le stade épi –1 cm (Kirby *et al.*, 1982). D'après Bouziani *et al.*, (2015), le peuplement d'épi dépend en premier lieu de potentiel génétique de la variété, de la densité de semis et de la puissance de tallage. Aussi, plus la disponibilité en eau et d'azote est suffisante plus le nombre d'épi s'exprime fortement. En effet, toute carence en azote entraîne une régression des tiges et une diminution de leur fertilité. De plus, le manque de précipitation durant le mois de Mai

*Deuxième expérimentation : Evaluation des performances agronomiques, physiologiques et biochimiques des génotypes de blé dur en plein champs*

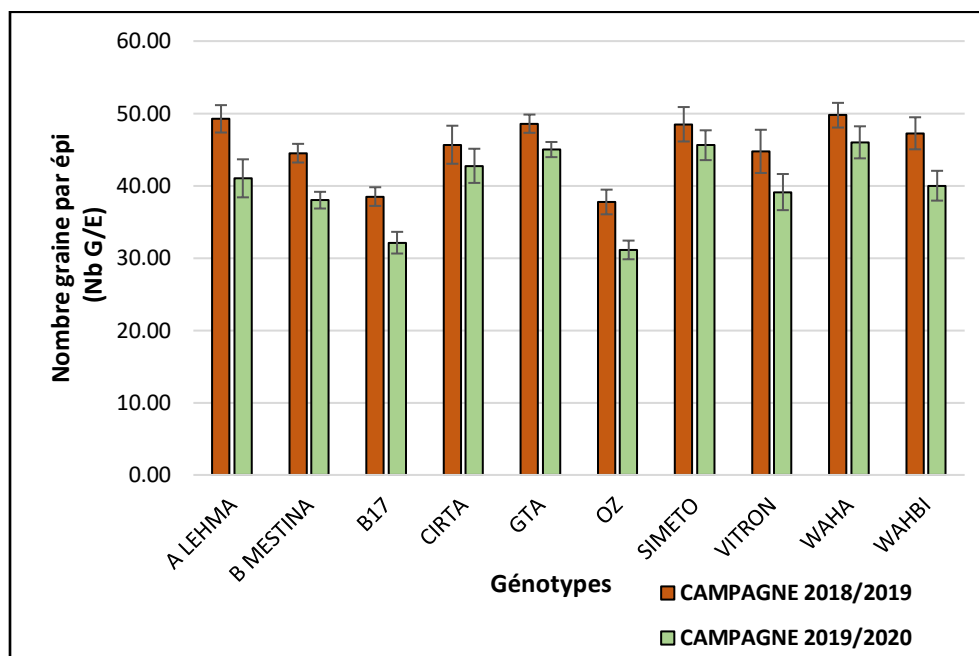
a exercé un impact négatif sur le nombre d'épi de la deuxième campagne. Le stress hydrique et les hautes températures de la période des 10 jours avant et après la date de réalisation du stade épiaison sont délétères à cette composante (Mekhlouf et *al.*, 2012). Selon Gundouz et *al.*, (2003), dans le cas des conditions de stress hydrique, seul le nombre d'épi/m<sup>2</sup> qui a eu un effet direct et plus positif sur le rendement en grain.

### **2.2.3 Nombre de grains par épi (Nb G/E)**

L'analyse de la variance du nombre de grains/épi révèle des effets variété et année hautement significatifs (Tableau 3, annexe 1). Ces résultats révèlent l'existence de différences significatives entre variétés et années pour cette caractéristique. La différence génotypique est dû à plusieurs origines dont la différence de fertilité d'épi entre génotypes, des différences génotypiques de nombre d'épis formé par unité de surface, des différences de nombre d'épillets et de nombre de fleurs formées (Salmi et *al.*, 2019). Durant la première campagne, la plus grande valeur 49.25 grain par épi a été enregistrée chez la variété A lehma alors qu'une valeur minimale de 37.75 grains par épi est observée chez la variété OZ (Figure 24).

Au cours de la deuxième campagne, nous avons remarqué que les variétés GTA et Waha ont enregistré les valeurs maximales avec un nombre de grains/épi égale à (45,33±1.40) et (46.25±2.21) respectivement. Cependant, la variété OZ a enregistré la valeur minimale avec (31.12 ±1.29 grains /E) suivie de la variété B17 avec (32,25±1.5 grains /E). La campagne 2018/2019 s'est montrée plus favorable à la fertilité des épis.

Deuxième expérimentation : Evaluation des performances agronomiques, physiologiques et biochimiques des génotypes de blé dur en plein champs



**Figure 24** : Variation du nombre de grains par épi des 10 génotypes de blé dur au cours des deux campagnes (2018-2019) et (2019-2020).

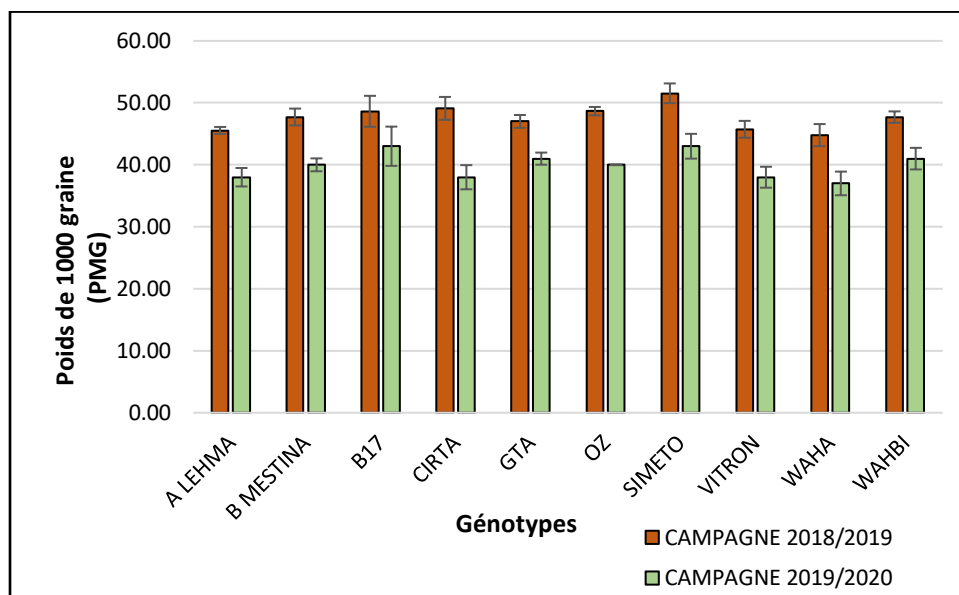
Le nombre de grains par épi fait partie des composantes de rendement la plus importante. Elle joue un rôle primordial dans la variabilité du rendement (Amallah, 2017). Selon le même auteur, ce paramètre dépend de la fertilité des épillets et peut s'associer à d'autres composantes du rendement, et souligne que les meilleurs rendements en grains de blé dur en zones semi-arides sont le résultat de la capacité génétique à produire plus d'épis par unité de surface associée à une bonne fertilité. Au cours du remplissage des grains, le manque d'eau a pour conséquence une réduction de la taille des grains (échaudage), et par conséquent provoquant une réduction du rendement. De même Fellah, *et al.* (2002) ont montré que le nombre d'épillets fertiles est réduit lorsque la sécheresse se produit pendant la phase de différenciation des épillets, ce qui affecte négativement le nombre de grains par épis.

#### 2.2.4 Le poids de 1000 grains (PMG)

Tenant compte des résultats obtenus, l'effet génotype et année sont hautement significatifs pour cette variable (tableau 04, annexe 1) ; Pendant la première campagne, les valeurs du PMG présentées par les variétés étudiées varient entre une valeur maximale de 51.55 g enregistrée chez la variété Simeto et une valeur minimale de 44.79 g observée chez la variété Waha (Figure 25). A

*Deuxième expérimentation : Evaluation des performances agronomiques, physiologiques et biochimiques des génotypes de blé dur en plein champs*

partir des résultats illustrés dans la figure 25, nous avons distingué une baisse du PMG chez tous les génotypes étudiés durant la campagne 2019/2020, la plus forte baisse a été notée chez la variété Cirta (9.95%).



**Figure 25** : Variation du poids de 1000 grains des 10 génotypes de blé dur au cours des deux campagnes (2018-2019) et (2019-2020).

Les variations dans le PMG entre les deux campagnes pourraient être dû au manque d'eau qui est survenu en mois de Mai et Juin durant la deuxième campagne et qui a coïncidé avec la période de remplissage des grains. Duggan et folwer, (2006) et Nouar, (2015) mentionnent que la compétition entre le nombre de grains /épi et le poids de 1000 grains explique une grande part de l'interaction et permet à certaines variétés d'ajuster leur rendement sous stress. Selon Hannachi, (2017), les plants ayant un nombre de grains par épi élevé se distinguent, par contre, par une réduction du poids de 1000 grains.

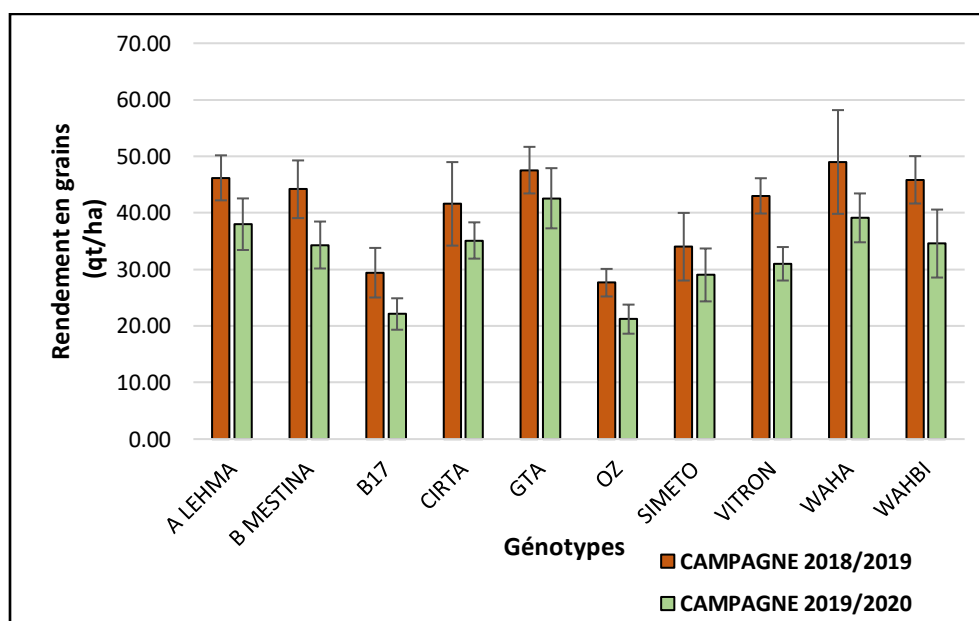
Selon Benbelkacem et Kellou, (2000), le PMG est généralement peu maîtrisable, car il est fortement lié aux effets de l'environnement au moment de la formation et du remplissage du grain. Un manque d'eau après floraison combiné aux températures élevées entraîne une diminution du PMG par altération de la vitesse et/ou de la durée de remplissage des grains ce qui se traduit par l'échaudage des grains. En outre, Holloway et Jeffree, (2017) suggèrent que le stress hydrique provoque une réduction du poids de 1000 grains et qui peut atteindre un taux de réduction de 50%.



### 2.2.5 Le rendement en grain (Rdt)

La variation du rendement en grains chez toutes les variétés a été distinguée clairement au cours des deux campagnes agricoles. L'analyse de variance, représentée dans le tableau 5, Annexe 01, nous révèle des différences très hautement significatives entre les variétés et significatives entre les deux campagnes. Durant la première année, l'intervalle de cette variation (Figure 26) s'étale, entre 27.66 et 49.01qt/ha chez les deux variétés OZ et Waha respectivement.

Pendant la deuxième campagne les valeurs de rendement s'étalent entre 21.21 et 42.59 qt/ha chez les variétés B17 et GTA respectivement. On remarque que la variété GTA semble exprimer de manière claire leur aptitude à produire même en conditions climatiques défavorables à l'exemple de la campagne 2019- 2020.



**Figure 26** : Variation du rendement en grain des 10 génotypes de blé dur au cours des deux campagnes (2018-2019) et (2019-2020).

Le manque d'eau survenu lors de la deuxième campagne, est à l'origine de la baisse du rendement lors de cette campagne (585 mm en 2018 contre 392.6mm en 2019). Ceci est en plein accord avec les résultats rapportés par Moragues *et al.* (2006). En conditions de déficit hydrique, la croissance et le développement des cultures sont entravées, en plus le déficit hydrique tant que stress multidimensionnel affecte divers processus physiologiques et chimiques de la plante, provoquant des effets négatifs sur la transpiration, la photosynthèse, la respiration et les réactions

*Deuxième expérimentation : Evaluation des performances agronomiques, physiologiques et biochimiques des génotypes de blé dur en plein champs*

métaboliques. Cela nous a permis d'expliquer les pertes de rendement notées lors de la deuxième campagne.

Les épisodes de sécheresse terminale du blé sont courants dans les climats méditerranéens et entraînent des diminutions substantielles du rendement en grains (Turner, 2004). Par exemple, une légère sécheresse post anthèse a réduit les rendements en blé de 1 à 30 % tandis qu'une légère sécheresse prolongée à la floraison et au remplissage des grains a réduit les rendements en grains de 58 à 92 % (Dias de Oliveria *et al.*, 2013).

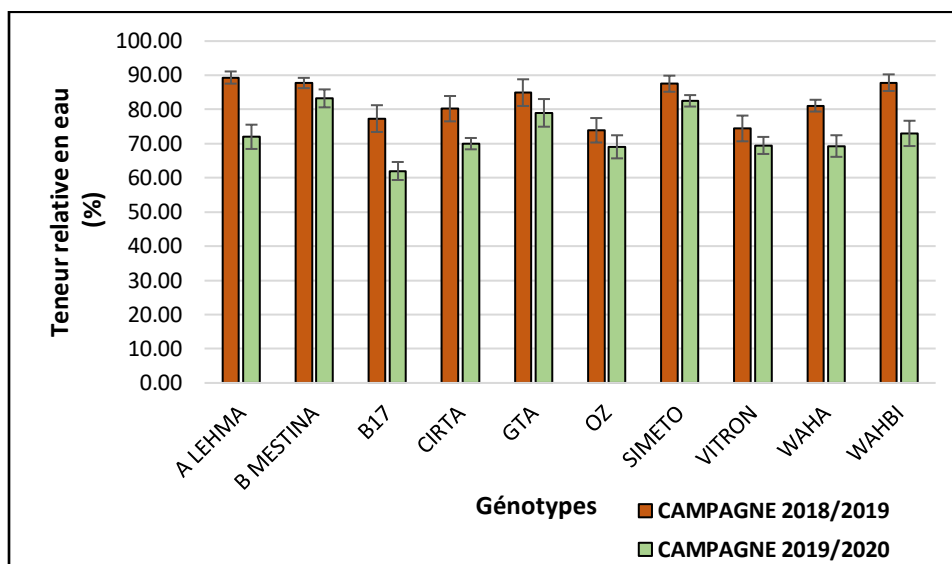
### **2.2.6 Evaluation de la teneur Relative en Eau (TRE)**

La teneur relative en eau est considérée comme un indicateur physiologique important et directe de l'état hydrique de la plante. D'après les résultats illustrés dans la figure 27 nous remarquons une diminution dans les valeurs de la teneur en eau entre les deux campagnes. L'effet génotype et année sont hautement significatifs pour cette variable (tableau 06, annexe 1).

Au cours de la première campagne, les valeurs de la TRE enregistrées par les variétés étudiées varient entre une valeur maximale de 89.34% enregistrée chez la variété A lehma et une valeur minimale de 73.91% notée chez la variété OZ.

Pendant la deuxième campagne, une chute remarquable de la TRE est signalée chez l'ensemble des génotypes étudiés, une valeur maximale de 83.25% est enregistrée chez la variété B mestina alors que la valeur minimale de 61.32% est notée chez la variété B17.

Deuxième expérimentation : Evaluation des performances agronomiques, physiologiques et biochimiques des géotypes de blé dur en plein champs



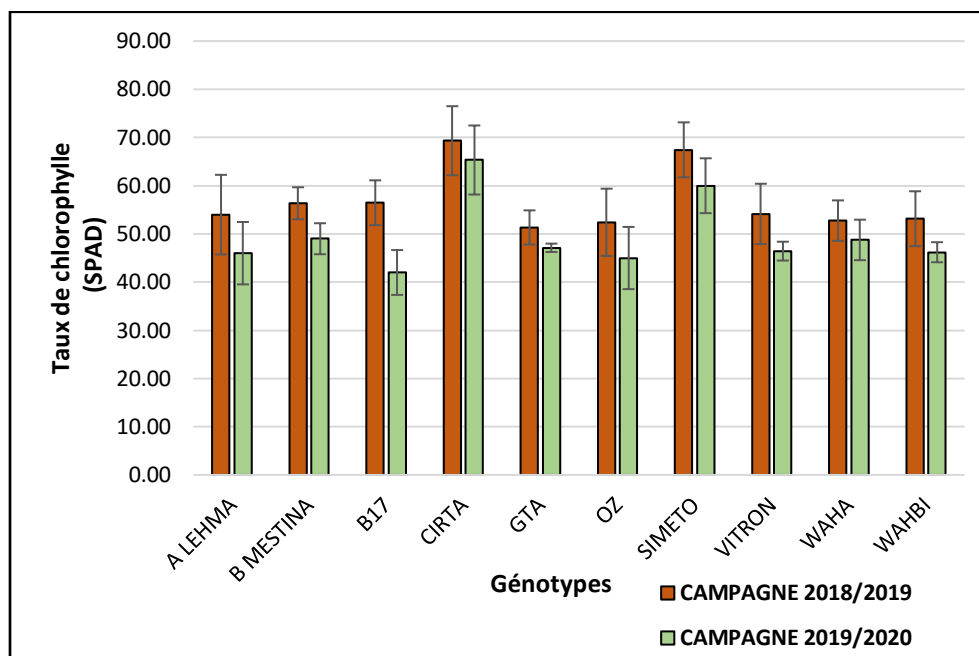
**Figure 27** : Variation de la teneur relative en eau des 10 géotypes de blé dur au cours des deux campagnes (2018-2019) et (2019-2020).

Selon habash *et al.*, (2014), les variétés qui maintiennent des teneurs foliaires relatives en eau élevées en conditions déficitaires sont considérées comme étant des variétés résistantes à la sécheresse. D'autre part, Bayoumi *et al.* (2008) ont attribué l'abaissement de ce paramètre sous des conditions défavorables soit aux différences entre les variétés dans le pouvoir de pompage de l'eau du sol par les racines, soit au pouvoir du contrôle stomatique des pertes d'eau par les surfaces évaporantes. Il peut être aussi attribué à des différences entre les variétés dans le pouvoir d'accumulation des métabolites et de l'ajustement osmotique pour le maintien de la turgescence cellulaire et les activités physiologiques.

### 2.2.7 Evaluation de la teneur en chlorophylle totale

La variation de la teneur en chlorophylle chez toutes les variétés a été distinguée clairement au cours des deux campagnes agricoles. L'analyse de variance, représentée dans le tableau 7, Annexe 01, nous révèle des différences très hautement significatives entre les variétés et significatives entre les deux campagnes. Durant la première année, l'intervalle de cette variation (Figure 28) s'étale, entre 51.35 et 69.33 unités SPAD chez les deux variétés GTA et Cirta respectivement. Pendant la deuxième campagne les valeurs de la teneur en chlorophylle varient entre 42.13 et 60.3 unités SPAD chez les variétés B17 et Simeto respectivement.

Deuxième expérimentation : Evaluation des performances agronomiques, physiologiques et biochimiques des génotypes de blé dur en plein champs



**Figure 28** : Variation du taux de chlorophylle des 10 génotypes de blé dur au cours des deux campagnes (2018-2019) et (2019-2020).

Le manque d'eau engendré durant la campagne 2019-2020 a causé une diminution du taux de chlorophylle qui varie entre les variétés en fonction de leur degré de tolérance au stress hydrique. Fait appuyé par diverses études (Parwata *et al.*, 2012 ; Bousbaa *et al.*, 2013). Une diminution qui peut s'expliquer selon Parwata et collaborateurs (2012), par le fait que le déficit hydrique réduit l'assimilation de l'azote via le sol. L'azote étant un composant essentiel dans la formation de la chlorophylle, le stress va donc réduire la concentration des pigments chlorophylliens.

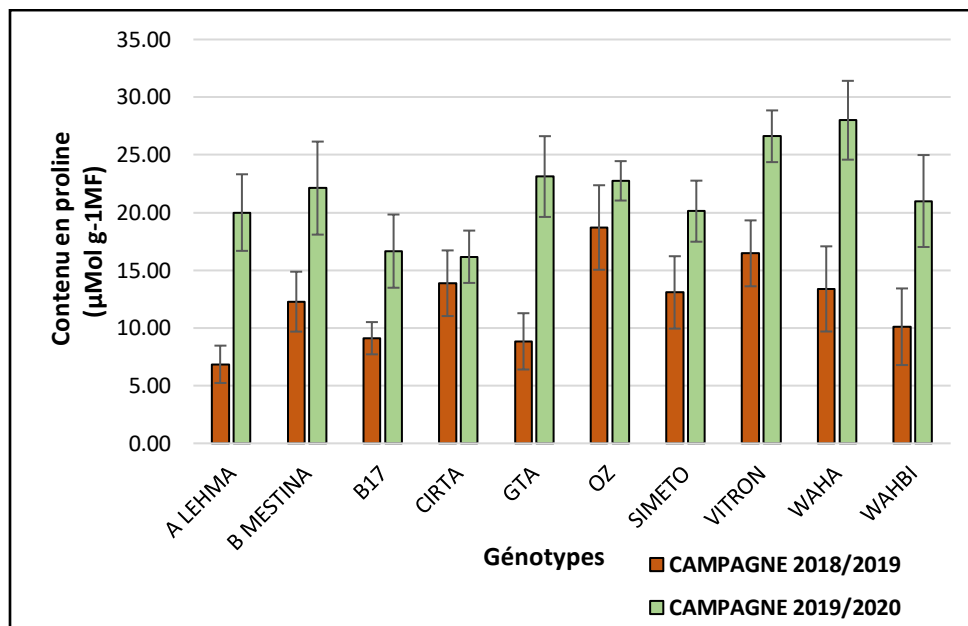
Une autre explication tout aussi probable, est que la diminution du taux de chlorophylle, peut être le résultat de la réduction de l'ouverture des stomates qui limite l'évapotranspiration, ayant comme conséquence une photoinhibition prolongée (Bousbaa *et al.*, 2013).

### 2.2.8 Evaluation de la teneur en proline

L'analyse de la variance a révélé l'existence d'une différence très hautement significative entre les variétés et les campagnes (Tableau 08, annexe 1). Durant la campagne (2018/2019), la moyenne de la teneur en proline la plus élevée est enregistrée chez la variété OZ avec une valeur de  $18.71 \mu\text{Mol g}^{-1} \text{MF}$  et la plus faible teneur de  $6.85 \mu\text{Mol g}^{-1} \text{MF}$  est notée chez la variété A lehma. Par contre, une nette augmentation de la teneur en proline dans les feuilles des plantes a

*Deuxième expérimentation : Evaluation des performances agronomiques, physiologiques et biochimiques des génotypes de blé dur en plein champs*

été marquée dans la deuxième campagne (Figure 29). Cette augmentation des valeurs de la teneur en proline varie entre 28.01 et 16.66  $\mu\text{Mol g}^{-1}$  MF chez les variétés Waha et Bidi 17 respectivement.



**Figure 29** : Variation de la teneur en proline des 10 génotypes de blé dur au cours des deux campagnes (2018-2019) et (2019-2020).

L'accumulation de solutés compatibles tels que la proline est associée à une tolérance accrue à la sécheresse chez les plantes (Trovato *et al.*, 2019). La biosynthèse de la proline est un trait qui est couramment cité et étudié dans la réponse des plantes au stress hydrique (Ghosh *et al.*, 2022).

Des résultats similaires concernant l'augmentation de l'accumulation de la proline en condition déficitaires ont été rapporté par Wang *et al.*, (2019) sur des variétés de blé, ou l'auteur a annoncé que l'accumulation de la proline est significativement plus élevée chez les cultivars tolérants à la sécheresse que chez les cultivars sensibles. L'accumulation de la proline dans des conditions de stress pourrait être le résultat de trois processus complémentaire : stimulation de sa synthèse, inhibition de son oxydation et ou altération de la biosynthèse des protéines (Ghosh *et al.*, 2022).

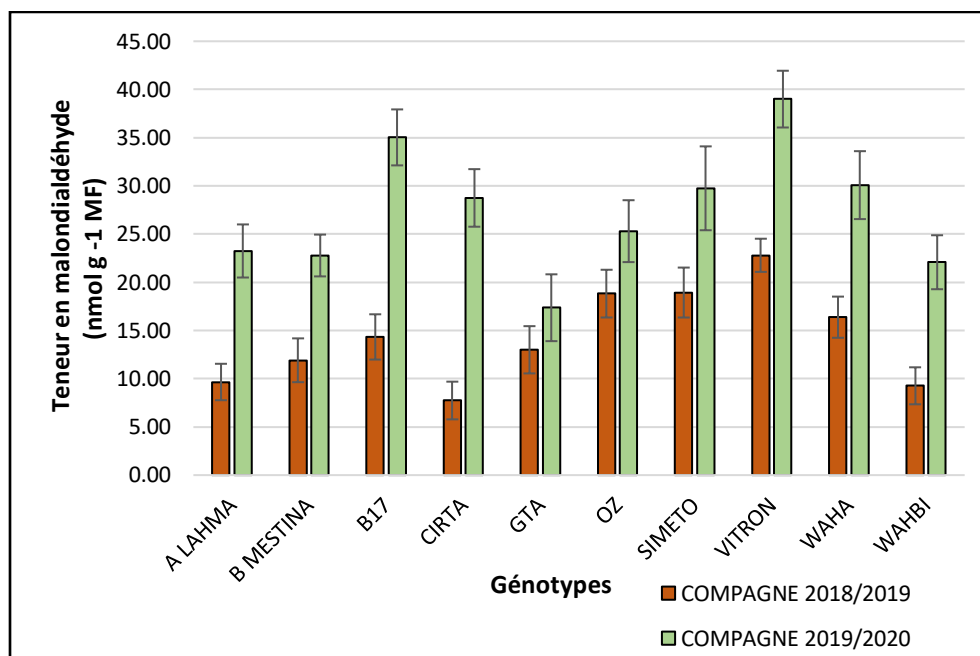
### **2.2.9 Evaluation de la teneur en MDA**

Les résultats de l'analyse de variance de la concentration des malondialdéhydes indiquent un effet génotype et un effet année très hautement significatif (Tableau 09, annexe 01). Au cours

*Deuxième expérimentation : Evaluation des performances agronomiques, physiologiques et biochimiques des génotypes de blé dur en plein champs*

de la première campagne, les valeurs des teneurs en MDA varient entre  $7.74 \pm 1.95$  et  $22.80 \pm 2.94$  nmol g<sup>-1</sup> MF chez les deux variétés Cirta et Vitron respectivement.

Lors de la deuxième campagne, une accumulation considérable des teneurs en MDA dans les tissus foliaires est observée chez toutes les variétés étudiées (Figure 30), la concentration la plus élevée est notée chez la variété Vitron tandis que la variété Wahbi a marqué la valeur minimale des concentrations en MDA.



**Figure 30 :** Variation de la concentration en malondialdéhyde (MDA) des 10 génotypes de blé dur au cours des deux campagnes (2018-2019) et (2019-2020).

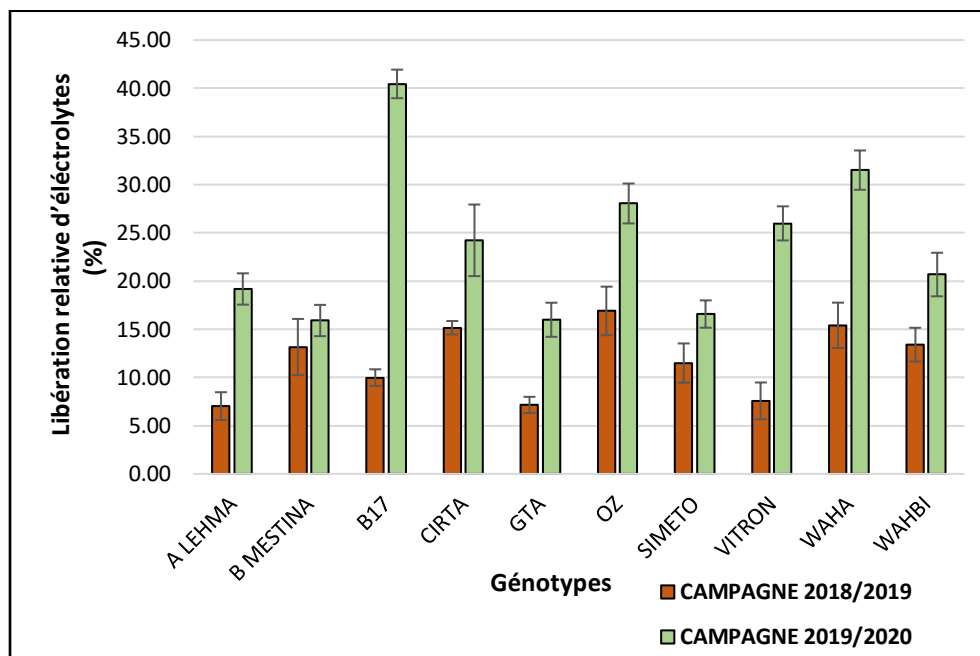
La teneur en MDA reflète le niveau de la peroxydation des lipides membranaires, donc c'est un indicateur fiable des dommages oxydatifs de la membrane chez les plantes exposées aux différents stress (Meena *et al.*, 2016). Les résultats obtenus au cours de la campagne (2019/2020), révèlent une augmentation importante de la peroxydation des lipides sous des conditions défavorables, ce qui a conduit à une augmentation très significative de la teneur en malondialdéhyde chez les génotypes étudiés. Ceci peut témoigner d'une forte peroxydation des lipides suite à l'installation d'un stress oxydatif dans les feuilles et qui a provoqué une accumulation des ERO suggérant une relation entre les stress hydriques et le stress oxydatif. La peroxydation des lipides membranaires pourrait être la conséquence d'un défaut de fonctionnement du système de détoxification, qui pourrait mener aux dommages des composants cellulaires

*Deuxième expérimentation : Evaluation des performances agronomiques, physiologiques et biochimiques des génotypes de blé dur en plein champs*

principaux (Khajeeyan *et al.*, 2019). Une telle réponse est rapportée sous l'effet du déficit hydrique chez le blé (Nasirzadeh *et al.*, 2021 ; Yan et Shi, 2013).

### 2.2.10 Evaluation de la conductivité électrolytique

Durant la campagne 2018-2019, les variétés étudiées présentent des valeurs de conductivités électrolytiques comprises dans l'intervalle (7.03% - 16.91%) enregistrées chez les variétés A lehma et OZ respectivement (Figure 31). Des valeurs qui restent plus faibles que celles observées en campagne 2019-2020. L'analyse de la variance a révélé l'existence d'une différence très hautement significative entre les variétés et les campagnes (Tableau 10, annexe 1). Au cours de la deuxième année, le taux d'électrolytes le plus élevé est enregistré chez la variété B17 avec une valeur de 40.45% et le plus faible taux de 16.58% est noté chez la variété Simeto.



**Figure 31** : Variation de la conductivité électrolytique chez 10 génotypes de blé dur au cours des deux campagnes (2018-2019) et (2019-2020).

Le degré de dommage de l'intégrité de la structure membranaire a été estimé indirectement par la mesure du taux d'électrolytes. Nos résultats suggèrent fortement que les conditions défavorables de la deuxième campagne, ont causé une peroxydation des lipides entraînant ainsi une fluidité de la membrane et par conséquent, une augmentation du taux de fuite d'électrolytes est enregistrée chez l'ensemble des génotypes étudiés. Conformément à nos résultats, les effets significatifs de la sécheresse sur la conductivité électrolytique ont été rapportés par plusieurs

## *Deuxième expérimentation : Evaluation des performances agronomiques, physiologiques et biochimiques des génotypes de blé dur en plein champs*

auteurs (Sun *et al.*, 2020 ; Bouchemal *et al.*, 2017). Des effets similaires ont été rapportés par Valentovic *et al.*, (2016) qui ont constaté que les dommages des membranes et les fuites d'électrolytes étaient plus élevés dans les feuilles des cultivars de maïs sensibles à la sécheresse que dans celles tolérantes. Toutefois, Une faible fuite des électrolytes en conditions de stress hydrique suggère une meilleure intégrité de la membrane et une tolérance contre le stress oxydatif (Liu *et al.*, 2011).

### **2.3 Etude des corrélations entre les paramètres mesurés**

L'analyse des corrélations entre les paramètres étudiés durant les deux campagnes agricoles montre qu'il existe des relations positives et négatives entre ces paramètres allant d'une corrélation faible à élevée (Tableau 11,12 annexe 01).

Concernant la campagne agricole 2018-2019, l'étude des corrélations entre les différentes variables mesurées révèle que le rendement grain (Rdt) est positivement lié avec le nombre de grains par épis ( $r=0.815$ ), le nombre d'épis par  $m^2$  ( $r= 0.372$ ) et la teneur relative en eau ( $r= 0.506$ ) par contre il est corrélé négativement avec le poids de 1000 grains ( $r= - 0.670$ ), la teneur en MDA ( $r= -0.378$ ), la teneur en proline ( $r= -0.388$ ) et taux EL ( $r = -0.260$ ). (Tableau 11, annexe 01).

Quant à l'analyse des corrélations entre les paramètres étudiés en campagne 2019-2020, elle démontre que le Rdt est positivement lié avec le nombre de grains par épis ( $r=0.799$ ), le nombre d'épis par  $m^2$  ( $r= 0.355$ ), la teneur relative en eau ( $r= 0.464$ ) et la teneur en proline ( $r = 0.295$ ). Par contre il est corrélé négativement avec le poids de 1000 grains ( $r= - 0.464$ ), la teneur en MDA ( $r= -0.498$ ), et taux EL ( $r = -0.545$ ). (Tableau 12, annexe 01).

Ces résultats corroborent avec plusieurs recherches qui suggèrent que le rendement est constitué de différentes composantes qui se mettent en place successivement ou simultanément au cours du développement de la culture. D'après nos résultats, le nombre des grains par épi a contribué de manière significative sur le rendement en grain. Ces résultats sont en accord avec Erchidi et ces collaborateurs (2000) qui indiquent que le rendement en grain du blé est plus lié à la fertilité de l'épi qu'au poids moyen du grain (Belkharouché *et al.*, 2009).

D'après Benbelkacem et Kellou (2000), le PMG est généralement peu maîtrisable, car il est fortement lié aux effets de l'environnement au moment de la formation et du remplissage du grain.

Un manque d'eau après floraison combiné aux températures élevées entraîne une réduction du PMG par l'échaudage des grains. Une étude de l'INRA (2006) a également montré que



*Deuxième expérimentation : Evaluation des performances agronomiques, physiologiques et biochimiques des génotypes de blé dur en plein champs*

l'installation d'un stress hydrique après la fécondation réduit la taille des organes, ce qui entraîne une réduction du nombre de grains, affectant le rendement même si les conditions hydriques redeviennent favorables.

## **2.4 Analyse en composantes principales (ACP)**

Afin de mieux visualiser les interactions entre les différents paramètres étudiés et les relations existantes entre les réponses génotypiques durant les deux campagnes (2018-2019) et (2019-2020), nous avons eu recours à l'analyse en composantes principales (ACP).

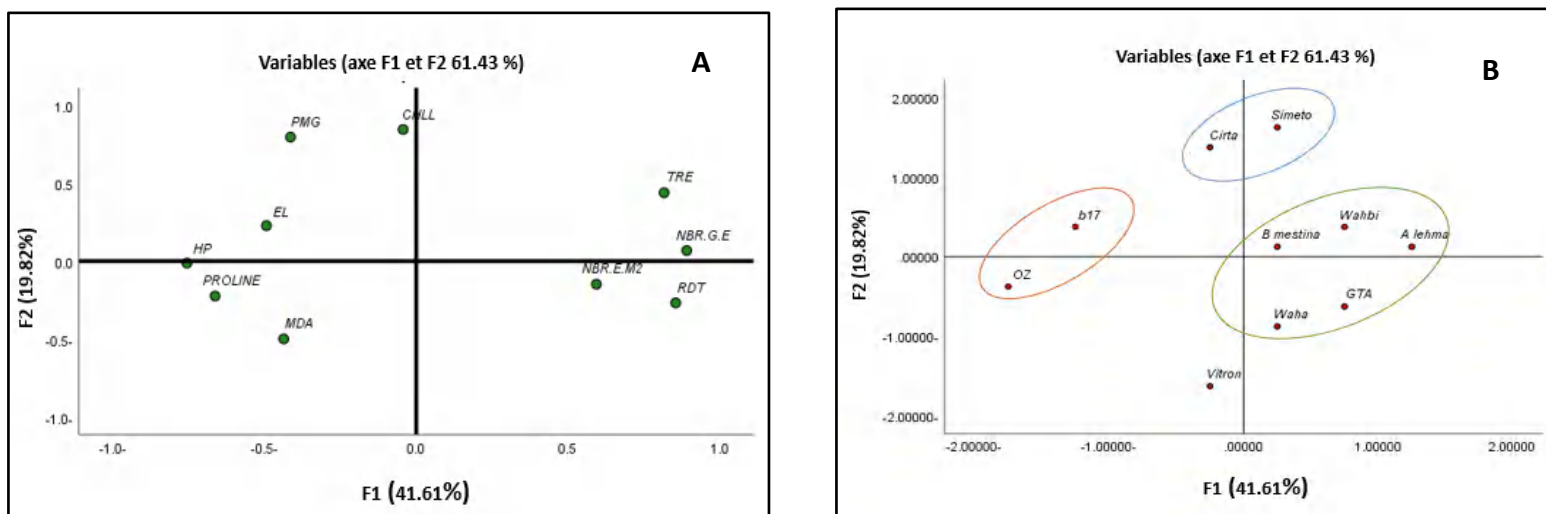
### **2.4.1 Campagne 2018-2019**

L'ensemble des paramètres mesurés durant la campagne 2018-2019 sur les dix variétés a fait l'objet d'une ACP. Les corrélations entre les variables mesurées avec les axes F1 et F2 expliquent 41.61% et 19.82% respectivement, soit un total de 61.43 % d'information.

Du côté positif, l'axe F1 caractérise l'information relative à la variation de la majorité des composantes de rendement à savoir Nbr E/m<sup>2</sup>, Nbr G/E, Rdt ainsi la TRE. Le long de cet axe F1 s'oppose la teneur en proline, MDA, HP et EL. Cependant, les variables PMG et la teneur en chl détermine l'axe F2. (Figure 32 A).

En tenant compte de la signification des axes, nous avons analysé la répartition des variétés (Figure 32 B). Le long de l'axe F1 englobe les variétés A lehma, B mestina, GTA dur, Waha et Wahbi qui se distinguent par une productivité satisfaisante par rapport aux autres variétés étudiées, exprimées par un rendement en grain élevé ainsi ces composantes à savoir Nb E/m<sup>2</sup>, Nb G/E, un bon état hydrique des plantes représenté par une teneur relative en eau élevée. Quant aux variétés, B17 et OZ se caractérise par un faible rendement au cours de cette expérimentation qui serait probablement dû aux dommages cellulaires importants exprimés par une forte accumulation de MDA et un taux de fuite d'électrolytes élevé. Les variétés Simeto et Cirta forment un groupe intermédiaire qui se caractérisé par un rendement en grain moyen avec un PMG et teneur en chlorophylle élevée.

*Deuxième expérimentation : Evaluation des performances agronomiques, physiologiques et biochimiques des génotypes de blé dur en plein champs*



**Figure 32 :** Représentation descriptive par analyse des composantes principales (ACP) des valeurs des paramètres étudiés en campagne 2018/2019

**A :** présentation des corrélations entre les variables ; **B :** répartition des génotypes sur la carte factorielle.

### 2.4.2 Campagne 2019-2020

L'analyse des résultats de la seconde campagne montre que les deux axes principaux de l'ACP (F1 et F2) expliquent 44.18 et 21.40 % respectivement, soit un total de 66.18% (Figure33).

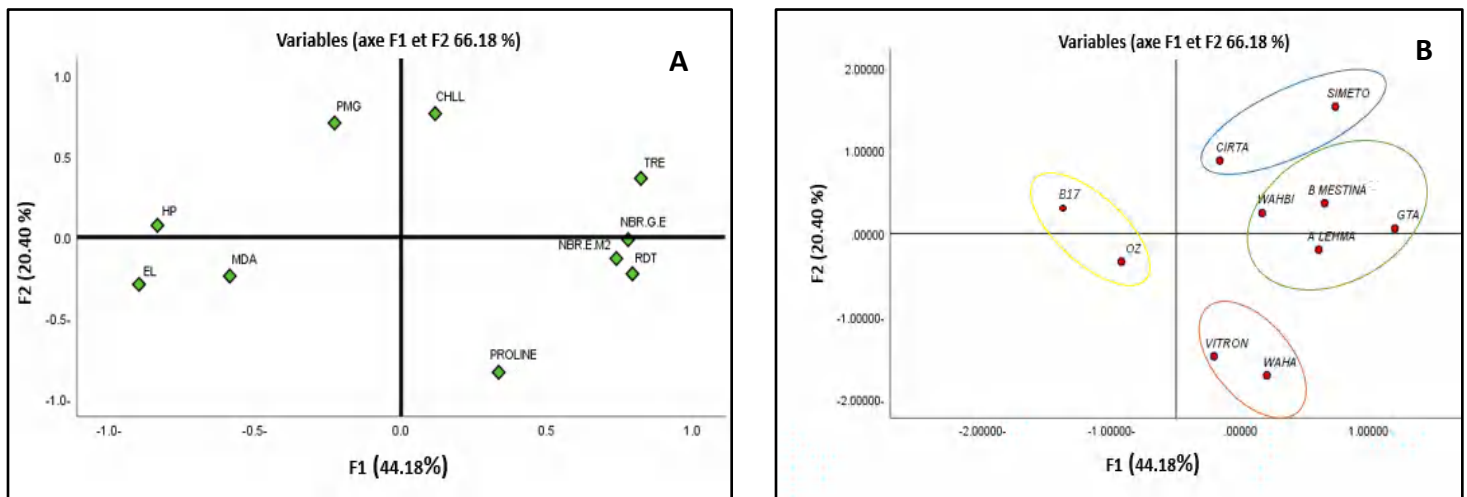
L'analyse des corrélations illustrées sur la Figure 33 (A) révèle que l'axe F1 qui contient à lui seul 44.18% de l'information apportée par l'ensemble des paramètres étudiés, est formé principalement de son côté positif par les variables Nbr E/m<sup>2</sup>, Nbr G/E, Rdt, la TRE ainsi que la teneur en proline. Cette dernière a exprimé une forte accumulation chez l'ensemble de génotype en comparaison à la première campagne. Le côté négatif de l'axe F1 est caractérisé par la HP, la teneur en MDA et le taux EL. Tandis que l'axe 2 qui ne contient que 26,7% de l'information est très fortement corrélé avec les variables Chll et PMG.

L'information apportée par l'axe F1 pour la campagne 2019-2020, indique que les variétés A lehma, B mestina, GTA dur et Wahbi se caractérisent par des valeurs élevées de Nbr E/m<sup>2</sup>, Nbr G/E, Rdt, la TRE ainsi une forte accumulation de la proline (Figure 33 B). Quant aux variétés, B17 et OZ se caractérisent comme en première année par un faible rendement et une teneur en MDA importante. Alors que l'axe F2 indique que les génotypes Waha et Vitron se caractérise par

*Deuxième expérimentation : Evaluation des performances agronomiques, physiologiques et biochimiques des génotypes de blé dur en plein champs*

un rendement en grain moyen avec un bon ajustement osmotique exprimé par une forte accumulation de la proline.

En effet les variétés A lehma, B mestina, GTA dur et Wahbi semblent exprimer de manière claire leurs aptitudes à produire même en conditions climatiques défavorables à l'exemple de la campagne 2019- 2020.



**Figure 33 :** Représentation descriptive par analyse des composantes principales (ACP) des valeurs des paramètres étudiés en campagne 2019/2020  
**A :** présentation des corrélations entre les variables ; **B :** répartition des génotypes sur la carte factorielle.

### 3. Conclusion

Lors de cette expérimentation, nous avons fixé l'objectif d'évaluer la variabilité existante entre les variétés étudiées, par l'étude des traits physiologiques, biochimiques et agronomiques ; vue leurs importance en tant que critères de sélection et leurs utilisations dans le criblage des génotypes adaptés et performants dans les conditions intrinsèques du milieu.

Les résultats obtenus au cours des deux années d'étude révèlent que l'ensemble des caractères agronomiques, physiologiques et biochimiques restent influencés par la disponibilité en eau. Les rendements considérés notables sont réalisés par les variétés GTA dur, Ain Lehma, Beni

Mestina et Wahbi durant les deux campagnes ; ils sont étroitement liés au nombre d'épi par m<sup>2</sup> et le nombre de grain par épi. Par ailleurs, l'accumulation de la proline, représente aussi un

*Deuxième expérimentation : Evaluation des performances agronomiques, physiologiques et biochimiques des génotypes de blé dur en plein champs*

révélateur de rendement fortement exprimée durant la deuxième campagne. En effet, ce paramètre exprime le niveau de capacité du génotype à contrer les effets du stress par le maintien de l'ajustement osmotique. Ces paramètres représentent une résultante qui génère une plateforme de sélection de cultivars à rendement potentiel.

**Troisième expérimentation :**

*Evaluation de l'apport exogène de la proline sur le comportement morpho-physiologique et biochimique de quelques variétés de blé dur soumises au stress hydrique*

## **1 . Introduction**

Les plantes subissent les conditions du milieu ambiant dans lequel elles vivent durant leur cycle végétatif et réagissent en s'adaptant à la variation de ces conditions lorsqu'elles deviennent défavorables. Le stress hydrique est l'un des principaux facteurs limitant la croissance et le développement des plantes. Pour faire face à cette contrainte, les plantes développent plusieurs mécanismes adaptatifs morphologiques, physiologiques et/ou biochimiques pour échapper, éviter ou tolérer la contrainte (Levitt, 1982). L'un des mécanismes le plus courant est exprimé par des modifications du métabolisme cellulaire, les plantes s'adaptent métaboliquement au stress en accumulant des solutés organiques permettant ainsi le maintien de la turgescence cellulaire et donc contribuent aux plantes à mieux se comporter en terme de croissance et préservent les fonctions physiologiques de la plante (Raza *et al.*, 2023).

La proline figure parmi les osmolytes fréquemment accumulée dans les cellules des plantes en réponse aux conditions défavorables du milieu où elle participe activement dans l'ajustement osmotique interne de la plante. Outre son rôle d'osmorégulateur, la proline peut agir comme un antioxydant, notamment grâce à sa capacité de piégeage des radicaux libres (Szabados et Savouré 2010). Cela permet d'atténuer les dommages oxydatifs causés par les EROs. Elle accomplit aussi un rôle important dans la transmission du signal pendant le stress. La proline représente un acide aminé multifonctionnel, elle est souvent assignée à l'adaptation et la réponse des plantes aux contraintes environnementales. Son accumulation sous des conditions de stress hydrique a été rapportée par plusieurs chercheurs et chez différents types d'espèces (Dar *et al.*, 2016).

Compte tenu des différents rôles attribués à la proline. L'application exogène de cet acide aminé sous divers stress tels que la sécheresse, la salinité et la température élevée a été largement étudiée (Ghosh *et al.*, 2022). Des études antérieures ont montré que la proline exogène peut améliorer la croissance, le rendement et la tolérance des plantes au cours des périodes de stress environnemental défavorable (Hosseini *et al.*, 2022).

Suite aux résultats obtenus lors des deux premières expérimentations, où nous avons constaté qu'en conditions défavorables, une accumulation accrue de la proline est exprimée. Cette expérimentation a pour objectif principale l'étude des conséquences et le rôle de l'apport exogène de la proline sur le comportement des dix variétés de blé dur soumises à une contrainte hydrique induite par l'ajout du PEG-6000 au milieu hydroponique sous des conditions contrôlées, ces conséquences seront évaluées sur la base de la croissance, des paramètres physiologiques pour évaluer l'état hydrique des plantes (TRE, conductance stomatique, teneur

*Troisième expérimentation : Evaluation de l'apport exogène de la proline sur le comportement morpho-physiologique et biochimique des variétés de blé dur soumises au stress hydrique*

en chlorophylle), l'accumulation d'osmolytes (proline et sucres) et les marqueurs du stress oxydatif (teneur en MDA et taux de fuite d'électrolytes).

## 2. Résultats et discussion

### 2.1 Effets de la proline exogène sur la croissance en longueur des plantes

Les performances de la croissance de l'ensemble des génotypes étudiés avec l'ajout ou pas de la proline exogène ont été analysés dans des conditions contrôles et déficitaires par l'ajout du PEG-6000. Les résultats ont montré que la longueur des feuilles et des racines étaient affectées significativement ( $p < 0,05$ ) par l'ajout du PEG-6000.

En conditions contrôles, l'apport de la proline a induit une légère augmentation de la longueur aérienne (Tableau 07). Cependant, en conditions limitantes, l'apport exogène de la proline a atténué significativement l'effet négatif du PEG-6000 sur la longueur des feuilles où un taux d'augmentation de 42.30% et 30.05% a été enregistré chez les variétés Cirta et OZ respectivement.

**Tableau 07 :** Effets des différents traitements sur la longueur des feuilles (cm) chez 10 variétés de blé dur

Génotype	Traitement			
	C	C+P	S	S+P
<b>WAHA</b>	15,92 ± 0,38 <sup>b</sup>	17,15 ± 0,12 <sup>b</sup>	11,48 ± 2,37 <sup>d</sup>	14,53 ± 0,45 <sup>cd</sup>
<b>B17</b>	18,55 ± 0,66 <sup>a</sup>	19,43 ± 0,60 <sup>a</sup>	17,41 ± 0,92 <sup>b</sup>	17,28 ± 1,61 <sup>b</sup>
<b>WAHBI</b>	13,03 ± 0,49 <sup>d</sup>	14,20 ± 0,28 <sup>cd</sup>	12,39 ± 1,17 <sup>d</sup>	12,93 ± 1,44 <sup>d</sup>
<b>A LEHMA</b>	13,95 ± 0,81 <sup>d</sup>	14,73 ± 0,30 <sup>cd</sup>	11,79 ± 1,16 <sup>d</sup>	12,21 ± 1,86 <sup>d</sup>
<b>OZ</b>	14,06 ± 0,91 <sup>d</sup>	17,07 ± 0,96 <sup>b</sup>	10,77 ± 2,49 <sup>d</sup>	14,00 ± 1,40 <sup>d</sup>
<b>SIMETO</b>	15,76 ± 0,55 <sup>c</sup>	18,91 ± 1,03 <sup>a</sup>	13,79 ± 1,21 <sup>d</sup>	13,25 ± 0,96 <sup>d</sup>
<b>B MESTINA</b>	16,90 ± 0,71 <sup>b</sup>	20,31 ± 1,42 <sup>a</sup>	13,66 ± 1,30 <sup>d</sup>	16,84 ± 1,11 <sup>b</sup>
<b>VITRON</b>	15,25 ± 0,83 <sup>c</sup>	19,08 ± 1,35 <sup>a</sup>	11,53 ± 1,39 <sup>d</sup>	14,75 ± 1,89 <sup>cd</sup>
<b>GTA DUR</b>	17,03 ± 0,71 <sup>b</sup>	20,14 ± 0,69 <sup>a</sup>	16,16 ± 1,30 <sup>c</sup>	16,30 ± 0,86 <sup>c</sup>
<b>CIRTA</b>	16,00 ± 1,52 <sup>c</sup>	19,59 ± 1,84 <sup>a</sup>	10,07 ± 2,25 <sup>d</sup>	14,33 ± 2,27 <sup>cd</sup>

Les valeurs indiquent la moyenne ±SD (n=4). Les différentes lettres alphabétiques révèlent des différences significatives à  $p < 0,05$  selon le test de Student-Newman-Keuls

L'effet négatif du PEG-6000 sur la croissance des racines semble être réduit significativement par l'apport exogène de proline (Tableau 08). Sous conditions stressantes, l'ensemble des génotypes étudiés ont enregistré une augmentation de la croissance racinaire, elle est plus importante chez les génotypes Vitron et GTA avec des pourcentages d'augmentation de 41.67% et 48.85% respectivement.

*Troisième expérimentation : Evaluation de l'apport exogène de la proline sur le comportement morpho-physiologique et biochimique des variétés de blé dur soumises au stress hydrique*

**Tableau 08 :** Effets des différents traitements sur la longueur des racines (cm) chez 10 variétés de blé dur

Génotype	Traitement			
	C	C+P	S	S+P
<b>WAHA</b>	14,45 ± 2,38 <sup>b</sup>	13,90 ± 0,74 <sup>b</sup>	9,77 ± 0,46 <sup>d</sup>	11,43 ± 0,43 <sup>c</sup>
<b>B17</b>	15,70 ± 0,35 <sup>ab</sup>	16,18 ± 0,24 <sup>a</sup>	13,15 ± 4,00 <sup>c</sup>	15,43 ± 0,69 <sup>ab</sup>
<b>WAHBI</b>	13,73 ± 0,74 <sup>b</sup>	13,83 ± 0,83 <sup>b</sup>	10,45 ± 0,39 <sup>d</sup>	13,38 ± 1,32 <sup>b</sup>
<b>A LEHMA</b>	13,71 ± 0,58 <sup>b</sup>	16,20 ± 0,36 <sup>a</sup>	12,53 ± 2,07 <sup>c</sup>	13,33 ± 1,82 <sup>b</sup>
<b>OZ</b>	13,27 ± 0,89 <sup>b</sup>	14,83 ± 0,88 <sup>ab</sup>	10,59 ± 1,18 <sup>d</sup>	13,25 ± 0,94 <sup>b</sup>
<b>SIMETO</b>	14,58 ± 1,34 <sup>b</sup>	16,84 ± 1,27 <sup>a</sup>	11,16 ± 0,96 <sup>d</sup>	13,03 ± 0,77 <sup>b</sup>
<b>B MESTINA</b>	15,56 ± 1,16 <sup>ab</sup>	16,34 ± 1,88 <sup>a</sup>	12,47 ± 1,85 <sup>d</sup>	16,33 ± 1,82 <sup>a</sup>
<b>VITRON</b>	13,58 ± 1,17 <sup>b</sup>	14,92 ± 1,05 <sup>ab</sup>	9,22 ± 0,95 <sup>d</sup>	13,06 ± 1,08 <sup>c</sup>
<b>GTA DUR</b>	12,50 ± 2,08 <sup>c</sup>	12,90 ± 0,91 <sup>c</sup>	8,42 ± 1,96 <sup>d</sup>	12,53 ± 1,24 <sup>c</sup>
<b>CIRTA</b>	15,40 ± 2,41 <sup>ab</sup>	16,08 ± 2,07 <sup>a</sup>	11,33 ± 1,16 <sup>d</sup>	15,08 ± 0,82 <sup>ab</sup>

Les valeurs indiquent la moyenne ±SD (n=4). Les différentes lettres alphabétiques révèlent des différences significatives à  $p < 0,05$  selon le test de Student-Newman-Keuls

Il en ressort que le traitement au PEG-6000 entraîne un raccourcissement au niveau des feuilles et des racines des plantes. En fait, la capacité des plantes à absorber l'eau en général est limitée dans des conditions de stress, ce qui réduit le potentiel hydrique et la turgescence des cellules végétales. Ceci a pour résultat une diminution de la prolifération et la division cellulaire et, par conséquent, la réduction de la croissance des plantes (Kumari *et al.*, 2014). Néanmoins, l'application de la proline exogène (6 mM) a atténué l'effet du PEG-6000 et a amélioré la croissance aériennes et racinaire. Ces résultats restent en accord avec ceux de Semida *et al.*, (2020) qui ont montré l'effet améliorateur de la proline exogène sur la croissance des plantes d'oignon soumises au stress hydrique. De même, Bekka *et al.*, (2018) et Rasheed *et al.*, (2014) ont rapporté que l'application exogène de la proline favorise les paramètres de croissance chez le blé en condition de stress. Ces effets positifs de la proline peuvent être corrélés au rôle de cet osmoticum dans l'ajustement osmotique, ce dernier confère une meilleure absorption des nutriments essentiels, en particulier  $Mg^{+2}$ ,  $k^+$  et  $Ca^{+2}$ , qui stimule la croissance des plantes (Kavi *et al.*, 2015).

## 2.2 Effets de la proline exogène sur l'état hydrique des plantes

La teneur relative en eau (TRE) est considérée comme un indicateur physiologique important et directe de l'état hydrique de la plante. Les résultats obtenus avec le traitement au PEG-6000 sont similaires à ceux observés en culture sous serre en arrêt d'arrosage. En effet, le PEG-6000 a causé une diminution significative ( $p < 0,05$ ) de la teneur relative en eau chez toutes les variétés de blé dur (Tableau 9).



*Troisième expérimentation : Evaluation de l'apport exogène de la proline sur le comportement morpho-physiologique et biochimique des variétés de blé dur soumises au stress hydrique*

**Tableau 09 :** Effets des différents traitements sur la teneur relative (%) en eau chez 10 variétés

Génotype	Traitement			
	C	C+P	S	S+P
<b>WAHA</b>	91,09 ± 1,97 <sup>a</sup>	91,29 ± 0,93 <sup>a</sup>	54,18 ± 1,14 <sup>c</sup>	89,71 ± 1,82 <sup>a</sup>
<b>B17</b>	95,07 ± 1,04 <sup>a</sup>	93,38 ± 2,09 <sup>a</sup>	79,40 ± 2,81 <sup>b</sup>	94,17 ± 1,56 <sup>a</sup>
<b>WAHBI</b>	90,03 ± 1,98 <sup>a</sup>	92,04 ± 2,42 <sup>a</sup>	52,41 ± 2,09 <sup>c</sup>	76,64 ± 1,66 <sup>b</sup>
<b>OZ</b>	93,31 ± 1,43 <sup>a</sup>	92,61 ± 1,84 <sup>a</sup>	80,67 ± 2,11 <sup>b</sup>	78,04 ± 2,61 <sup>b</sup>
<b>A LEHMA</b>	94,81 ± 1,51 <sup>a</sup>	95,06 ± 1,54 <sup>a</sup>	58,05 ± 1,87 <sup>c</sup>	82,64 ± 3,23 <sup>b</sup>
<b>SIMETO</b>	93,41 ± 2,77 <sup>a</sup>	93,61 ± 3,89 <sup>a</sup>	62,91 ± 2,99 <sup>c</sup>	80,17 ± 1,77 <sup>b</sup>
<b>B MESTINA</b>	95,34 ± 3,05 <sup>a</sup>	94,33 ± 3,16 <sup>a</sup>	83,35 ± 4,26 <sup>b</sup>	90,74 ± 2,43 <sup>a</sup>
<b>VITRON</b>	94,38 ± 2,08 <sup>a</sup>	95,62 ± 3,75 <sup>a</sup>	72,01 ± 4,20 <sup>c</sup>	71,18 ± 1,83 <sup>c</sup>
<b>GTA DUR</b>	92,15 ± 3,89 <sup>a</sup>	94,76 ± 3,56 <sup>a</sup>	65,01 ± 4,30 <sup>c</sup>	68,40 ± 3,41 <sup>c</sup>
<b>CIRTA</b>	94,48 ± 3,49 <sup>a</sup>	95,32 ± 2,17 <sup>a</sup>	75,25 ± 2,03 <sup>bc</sup>	74,12 ± 2,73 <sup>bc</sup>

Les valeurs indiquent la moyenne ±SD (n=4). Les différentes lettres alphabétiques révèlent des différences significatives à  $p < 0,05$  selon le test de Student-Newman-Keuls

Les données relatives à l'effet de l'addition exogène de proline dans le milieu de culture ont montré qu'en conditions stressantes, l'effet de la proline sur la TRE est significatif par comparaison aux plantes stressées non traitées (s), la TRE a augmenté de façon significative chez les plantes stressées traitées (S+P), le taux de variation est de 65.50% et 46.24% respectivement chez les génotypes Waha et Wahbi. D'ailleurs les génotypes B17 et Waha sont parvenues à maintenir une TRE élevée presque similaire à celle des plantes contrôles.

Contrairement, en conditions contrôles, la proline n'a entraîné aucun effet. Ceci serait probablement dû à l'osmorégulation active, suite à l'établissement d'un mécanisme de tolérance au stress hydrique, à savoir l'ajustement osmotique. De plus, la proline exogène pourrait aussi améliorer le statut hydrique par la réduction de la transpiration à travers son effet sur la régulation de l'ouverture stomatique (Kaya *et al.*, 2007). Nos résultats rejoignent ceux obtenus par Zali et Ehsanzadeh, (2018) suggérant que la proline supplémentaire a amélioré la TRE des plantes de fenouil soumises au stress hydrique. L'étude de Ben ahmed *et al.*, (2010) a permis aussi de mettre en évidence l'effet de 25 mM de proline sur la TRE des plantes d'olivier soumises à un stress de salinité.

La conductance stomatique aussi fait partie des paramètres essentiels pour évaluer le statut hydrique de la plante et représente un indicateur important du taux de transpiration foliaire. D'après les résultats illustrés dans le tableau 10, la conductance stomatique n'était pas significativement différente entre les plantes témoins avec ou sans proline exogène. Néanmoins, Le traitement au PEG-6000 a affecté considérablement la conductance stomatique de l'ensemble des génotypes étudiés, mais les plantes traitées avec la proline présentaient des

*Troisième expérimentation : Evaluation de l'apport exogène de la proline sur le comportement morpho-physiologique et biochimique des variétés de blé dur soumises au stress hydrique*

valeurs plus élevées, en comparaison avec les plantes non traitées, où la valeur maximale a été enregistrée chez la variété Waha.

**Tableau 10 :** Effets des différents traitements sur la conductance stomatique ( $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) chez 10 variétés de blé dur

Génotype	Traitement			
	C	C+P	S	S+P
<b>WAHA</b>	113,69 ± 2,93 <sup>a</sup>	99,95 ± 1,86 <sup>b</sup>	27,35 ± 2,36 <sup>c</sup>	100,14 ± 2,24 <sup>b</sup>
<b>B17</b>	114,80 ± 4,12 <sup>a</sup>	101,91 ± 2,66 <sup>b</sup>	62,80 ± 3,79 <sup>d</sup>	95,38 ± 4,39 <sup>b</sup>
<b>WAHBI</b>	80,32 ± 1,12 <sup>d</sup>	77,05 ± 3,79 <sup>d</sup>	72,12 ± 2,80 <sup>d</sup>	73,74 ± 3,32 <sup>d</sup>
<b>A LEHMA</b>	97,46 ± 3,07 <sup>b</sup>	94,48 ± 1,53 <sup>b</sup>	50,60 ± 2,15 <sup>c</sup>	87,30 ± 2,60 <sup>c</sup>
<b>OZ</b>	90,62 ± 4,98 <sup>c</sup>	90,69 ± 1,25 <sup>c</sup>	61,24 ± 2,02 <sup>d</sup>	77,31 ± 1,65 <sup>d</sup>
<b>SIMETO</b>	89,05 ± 1,25 <sup>c</sup>	91,26 ± 1,81 <sup>c</sup>	55,06 ± 1,96 <sup>d</sup>	65,56 ± 4,71 <sup>d</sup>
<b>B MESTINA</b>	102,69 ± 3,86 <sup>b</sup>	98,08 ± 1,60 <sup>b</sup>	85,28 ± 4,05 <sup>cd</sup>	91,03 ± 1,80 <sup>cd</sup>
<b>VITRON</b>	97,66 ± 1,75 <sup>b</sup>	97,37 ± 2,18 <sup>b</sup>	55,67 ± 3,10 <sup>d</sup>	83,36 ± 2,90 <sup>cd</sup>
<b>GTA DUR</b>	88,41 ± 2,86 <sup>c</sup>	89,99 ± 2,52 <sup>c</sup>	43,63 ± 1,99 <sup>d</sup>	83,66 ± 3,38 <sup>cd</sup>
<b>CIRTA</b>	90,80 ± 4,15 <sup>c</sup>	91,97 ± 0,74 <sup>c</sup>	48,64 ± 2,65 <sup>d</sup>	82,30 ± 2,15 <sup>cd</sup>

Les valeurs indiquent la moyenne ±SD (n=4). Les différentes lettres alphabétiques révèlent des différences significatives à  $p < 0,05$  selon le test de Student-Newman-Keuls.

D'après les résultats obtenus, il ressort que l'addition de la proline dans le milieu de culture en conditions stressantes est efficace pour augmenter la conductance stomatique. Des résultats similaires ont été obtenus dans différentes espèces par d'autres chercheurs : niébe (Sadeghipour, 2020) ; Maïs (Demiralay *et al.*, 2017) ; Olivier (Ben ahmed *et al.*, 2010). Ces chercheurs ont rapporté la propriété de la proline exogène à favoriser l'absorption des ions  $\text{K}^+$  par les cellules de garde, ce qui permet de réguler la pression de turgescence et le maintien de l'ouverture des stomates et par conséquent augmenté la conductance stomatique. Akram *et al.*, (2021) ont conclu qu'une concentration de 0,8 mM de proline exogène est efficace pour améliorer la conductance stomatique des plantes de piment sous contrainte thermique.

## 2.2 Effets de la proline exogène sur la teneur en chlorophylle des plantes

Les résultats de la teneur en chlorophylle montrent une diminution importante chez les plantes soumises au stress hydrique par l'ajout du PEG-6000 (Tableau 11). Cependant, L'addition de proline en milieu témoin (C) a amélioré la teneur en chlorophylle dont la variété GTA dur a enregistré un taux d'augmentation de 36.66% par rapport aux plantes témoins non traitées (C+P). Pareillement, en condition stressante, la présence de la proline dans le milieu a induit une augmentation très significative de la teneur en chlorophylles chez les plantes stressées traitées (s+p) en comparaison au plantes stressées non traitées(s).

*Troisième expérimentation : Evaluation de l'apport exogène de la proline sur le comportement morpho-physiologique et biochimique des variétés de blé dur soumises au stress hydrique*

**Tableau 11** : Effets des différents traitements sur la teneur en chlorophylle ( $\text{mg g}^{-1}$  MF) chez 10 variétés de blé dur

Génotype	Traitement			
	C	C+P	S	S+P
<b>WAHA</b>	6.96 ± 0.97 <sup>b</sup>	5.97 ± 0.77 <sup>b</sup>	3.52 ± 0.93 <sup>d</sup>	7.08 ± 1.35 <sup>b</sup>
<b>B17</b>	7.42 ± 1.61 <sup>a</sup>	7.58 ± 0.51 <sup>a</sup>	5.78 ± 0.52 <sup>c</sup>	7.42 ± 0.63 <sup>a</sup>
<b>WAHBI</b>	5.98 ± 0.94 <sup>c</sup>	5.91 ± 0.93 <sup>c</sup>	3.11 ± 0.82 <sup>d</sup>	5.72 ± 1.79 <sup>c</sup>
<b>A LEHMA</b>	7,56 ± 1,22 <sup>a</sup>	7,64 ± 0,93 <sup>a</sup>	5,47 ± 0,81 <sup>c</sup>	7,25 ± 1,24 <sup>b</sup>
<b>OZ</b>	7,28 ± 0,82 <sup>b</sup>	6,65 ± 0,37 <sup>bc</sup>	4,65 ± 0,37 <sup>c</sup>	8,08 ± 0,13 <sup>a</sup>
<b>SIMETO</b>	6,17 ± 0,79 <sup>bc</sup>	7,66 ± 0,38 <sup>a</sup>	3,09 ± 0,88 <sup>d</sup>	7,20 ± 0,78 <sup>b</sup>
<b>B MESTINA</b>	7,14 ± 0,21 <sup>b</sup>	7,83 ± 0,21 <sup>b</sup>	6,86 ± 0,52 <sup>a</sup>	8,17 ± 0,67 <sup>a</sup>
<b>VITRON</b>	6,65 ± 1,23 <sup>bc</sup>	7,26 ± 0,61 <sup>b</sup>	4,32 ± 0,57 <sup>c</sup>	7,00 ± 0,72 <sup>bc</sup>
<b>GTA DUR</b>	5,65 ± 0,64 <sup>c</sup>	7,72 ± 0,42 <sup>a</sup>	4,08 ± 0,53 <sup>c</sup>	7,69 ± 0,41 <sup>a</sup>
<b>CIRTA</b>	7,07 ± 0,77 <sup>b</sup>	7,17 ± 0,34 <sup>b</sup>	4,44 ± 0,48 <sup>c</sup>	7,52 ± 0,62 <sup>a</sup>

Les valeurs indiquent la moyenne  $\pm$ SD (n=4). Les différentes lettres alphabétiques révèlent des différences significatives à  $p < 0,05$  selon le test de Student-Newman-Keuls.

D'après nos résultats, l'effet négatif du PEG-6000 sur la teneur en chlorophylle a été atténué par l'apport exogène de la proline. Ceci reste conforme aux résultats trouvés par Bhusan *et al.*, (2016) suggérant que la proline exogène a minimisé la dégradation de la chlorophylle dans des plantes de riz soumises au stress salin et a conféré une tolérance aux cultivars sensibles. De même Rasheed *et al.*, (2014) ont mentionné que l'ajout de 20 mM de proline a amélioré la teneur en chlorophylle chez des plantes de blé dur en présence de cadmium. L'effet bénéfique de la proline sur l'amélioration de la teneur en chlorophylle peut être attribué. En effet, les plantes soumises au stress hydrique ont tendance à surproduire les espèces réactives oxygènes toxiques qui causent des dommages et la dégradation de la chlorophylle. Donc, la proline exogène par son rôle de détoxification inhibe la destruction et la dégradation de la chlorophylle et favorise sa synthèse.

### 2.3 Effets de la proline exogène sur l'accumulation des sucres totaux

D'autres formes d'osmolytes accumulés en condition déficitaire dont les sucres solubles jouent un rôle important dans l'ajustement osmotique. Selon les données présentées dans le tableau 12 une nette augmentation significative de l'accumulation des sucres est enregistrée chez les plantes traitées par le PEG-6000. Cependant aucune différence significative est signalée suite à l'addition exogène de proline dans les deux conditions (C+P) et (S+P).

*Troisième expérimentation : Evaluation de l'apport exogène de la proline sur le comportement morpho-physiologique et biochimique des variétés de blé dur soumises au stress hydrique*

**Tableau 12 :** Effets des différents traitements sur la teneur en sucre (mg g<sup>-1</sup> MF) chez 10 variétés de blé dur

Génotype	Traitement			
	C	C+P	S	S+P
<b>B17</b>	5,22 ± 0,67 <sup>d</sup>	8,91 ± 0,79 <sup>d</sup>	25,74 ± 1,61 <sup>c</sup>	26,65 ± 1,17 <sup>c</sup>
<b>WAHA</b>	8,56 ± 0,92 <sup>d</sup>	8,55 ± 0,99 <sup>d</sup>	13,03 ± 0,76 <sup>a</sup>	11,04 ± 0,96 <sup>a</sup>
<b>WAHBI</b>	12,39 ± 1,19 <sup>c</sup>	11,48 ± 1,71 <sup>c</sup>	35,02 ± 1,99 <sup>a</sup>	32,22 ± 1,48 <sup>a</sup>
<b>A.LAHMA</b>	9,16 ± 0,90 <sup>d</sup>	7,42 ± 0,65 <sup>d</sup>	15,26 ± 1,16 <sup>c</sup>	14,34 ± 1,49 <sup>b</sup>
<b>OZ</b>	6,64 ± 0,41 <sup>d</sup>	6,43 ± 0,80 <sup>d</sup>	14,11 ± 0,73 <sup>c</sup>	14,28 ± 1,31 <sup>c</sup>
<b>SIMETO</b>	5,80 ± 0,61 <sup>d</sup>	5,31 ± 0,86 <sup>d</sup>	18,75 ± 0,51 <sup>b</sup>	17,56 ± 1,79 <sup>b</sup>
<b>B MESTINA</b>	6,61 ± 0,45 <sup>d</sup>	6,04 ± 1,00 <sup>d</sup>	23,93 ± 1,21 <sup>b</sup>	18,94 ± 0,97 <sup>b</sup>
<b>VITRON</b>	6,90 ± 0,40 <sup>d</sup>	7,37 ± 0,95 <sup>d</sup>	11,93 ± 1,48 <sup>c</sup>	9,26 ± 0,92 <sup>d</sup>
<b>GTA DUR</b>	3,86 ± 0,58 <sup>d</sup>	4,79 ± 0,43 <sup>d</sup>	6,87 ± 0,92 <sup>d</sup>	7,30 ± 0,45 <sup>d</sup>
<b>CIRTA</b>	4,83 ± 0,34 <sup>d</sup>	5,81 ± 0,90 <sup>d</sup>	13,87 ± 1,44 <sup>c</sup>	9,13 ± 0,90 <sup>d</sup>

Les valeurs indiquent la moyenne ±SD (n=4). Les différentes lettres alphabétiques révèlent des différences significatives à  $p < 0,05$  selon le test de Student-Newman-Keuls

Les résultats obtenus suggèrent que la proline exogène n'a pas exercé un effet sur l'accumulation des sucres en condition de stress. Il en est de même dans les résultats obtenus par Ben Ahmad *et al.*, (2010), où ils ont signalé une réduction dans l'accumulation des sucres dans les feuilles de l'olivier traitées par la proline en condition de stress salin et expliquent que la diminution de la teneur en sucres solubles dans les plantes traitées est dû à l'important effet osmoprotectant joué par la proline exogène, de manière à limiter le besoin des plantes stressées pour la synthèse des sucres solubles. D'autre part, nos résultats sont en contradiction avec les résultats approuvés par Moustakas *et al.*, (2011) qui ont enregistré une suraccumulation des sucres dans les feuilles d'*Arabidopsis thaliana*, sous condition de déficit hydrique.

#### **2.4 Effets de la proline exogène sur la teneur en proline endogène**

L'accumulation de la proline a considérablement augmenté ( $p < 0,05$ ) dans les feuilles de blé traitées par le PEG-6000. Les accumulations les plus élevées sont enregistrées chez les variétés B mestina, Vitron et Wahbi (8 fois plus que les témoins).

En condition contrôle, l'apport de la proline a induit une légère augmentation de la teneur en proline endogène (Tableau 13). Cependant, en condition limitante, l'apport exogène de la proline a contribué à une augmentation importante et significative sur le taux d'accumulation de cet osmolyte dans les feuilles de l'ensemble des génotypes étudiées, où un taux d'augmentation de 91.46% et 50.57 % a été enregistré chez les variété Waha et Wahbi respectivement.

*Troisième expérimentation : Evaluation de l'apport exogène de la proline sur le comportement morpho-physiologique et biochimique des variétés de blé dur soumises au stress hydrique*

**Tableau 13** : Effets des différents traitements sur la teneur en proline (mg g<sup>-1</sup> MF) chez 10 variétés de blé dur

Génotype	Traitement			
	C	C+P	S	S+P
<b>WAHA</b>	3,73 ± 0,97 <sup>d</sup>	6,34 ± 1,09 <sup>d</sup>	9,50 ± 0,42 <sup>c</sup>	18,18 ± 1,26 <sup>bc</sup>
<b>B17</b>	4,86 ± 0,82 <sup>d</sup>	8,46 ± 0,47 <sup>d</sup>	16,57 ± 1,41 <sup>c</sup>	23,98 ± 1,57 <sup>c</sup>
<b>WAHBI</b>	7,10 ± 0,87 <sup>d</sup>	8,85 ± 0,85 <sup>d</sup>	33,30 ± 2,36 <sup>b</sup>	50,14 ± 3,80 <sup>a</sup>
<b>A LEHMA</b>	6,75 ± 0,70 <sup>d</sup>	8,95 ± 0,56 <sup>d</sup>	36,53 ± 2,68 <sup>b</sup>	42,15 ± 1,59 <sup>a</sup>
<b>OZ</b>	5,44 ± 0,97 <sup>d</sup>	7,16 ± 1,26 <sup>d</sup>	14,39 ± 1,00 <sup>c</sup>	21,28 ± 1,60 <sup>c</sup>
<b>SIMETO</b>	6,34 ± 0,57 <sup>d</sup>	7,36 ± 1,72 <sup>d</sup>	26,34 ± 3,38 <sup>bc</sup>	33,28 ± 2,45 <sup>b</sup>
<b>B MESTINA</b>	5,01 ± 0,97 <sup>d</sup>	7,67 ± 1,15 <sup>d</sup>	41,95 ± 2,52 <sup>b</sup>	49,50 ± 2,89 <sup>a</sup>
<b>VITRON</b>	5,26 ± 0,91 <sup>d</sup>	6,49 ± 1,40 <sup>d</sup>	36,78 ± 2,17 <sup>b</sup>	40,80 ± 2,29 <sup>a</sup>
<b>GTA DUR</b>	4,58 ± 0,46 <sup>d</sup>	6,34 ± 0,90 <sup>d</sup>	25,34 ± 2,63 <sup>bc</sup>	28,63 ± 2,50 <sup>b</sup>
<b>CIRTA</b>	5,75 ± 1,04 <sup>d</sup>	8,03 ± 1,32 <sup>d</sup>	16,28 ± 4,80 <sup>c</sup>	24,45 ± 4,35 <sup>b</sup>

Les valeurs indiquent la moyenne ±SD (n=4). Les différentes lettres alphabétiques révèlent des différences significatives à  $p < 0,05$  selon le test de Student-Newman-Keuls

Sous traitement de proline exogène, les plantes stressées se sont montrées plus performantes en terme d'accumulation de proline par rapport aux plantes stressées non traitées, Ce qui corrobore plusieurs travaux de Ghaffaria *et al.*, (2021), Hayat *et al.*, (2021) ; Noreen *et al.*, (2018); Bhusan *et al.*, (2016). Les raisons possibles d'une accumulation accrue en proline pourraient être dû à une augmentation de la synthèse du glutamate et un ralentissement du taux d'oxydation des protéines (Siripornadulsil *et al.*, 2002 ; Tripathi et Gau.,2004) ou encore l'hypothèse qui suggère que la proline ajoutée au milieu est absorbée par les racines, transportée et distribuée vers les feuilles.

### 2.5 Effets de la proline exogène sur la teneur en protéines totales

La présence du PEG-6000 dans le milieu de culture a entraîné une baisse importante ( $p < 0,05$ ) de la teneur totale en protéines (Tableau14). En général, le stress osmotique modifie l'expression, l'accumulation et la synthèse des protéines et provoque ainsi leur dénaturation.

Néanmoins, une augmentation très significative de la teneur en protéines a été notée en présence de proline exogène dans des conditions de stress (S+P), les variétés Wahbi et Waha enregistrent des taux d'augmentation de 196% et 186% respectivement.

*Troisième expérimentation : Evaluation de l'apport exogène de la proline sur le comportement morpho-physiologique et biochimique des variétés de blé dur soumises au stress hydrique*

**Tableau 14 :** Effets des différents traitements sur la teneur en protéine (mg g<sup>-1</sup> MF) chez 10 variétés de blé dur

Génotype	Traitement			
	C	C+P	S	S+P
<b>WAHA</b>	3,52 ± 0,33 <sup>b</sup>	3,70 ± 0,41 <sup>b</sup>	1,18 ± 0,39 <sup>d</sup>	2,42 ± 0,44 <sup>cd</sup>
<b>B17</b>	4,03 ± 0,38 <sup>b</sup>	4,15 ± 0,89 <sup>b</sup>	1,42 ± 0,35 <sup>d</sup>	4,07 ± 0,68 <sup>b</sup>
<b>WAHBI</b>	4,72 ± 0,54 <sup>a</sup>	3,59 ± 0,80 <sup>b</sup>	0,76 ± 0,26 <sup>e</sup>	2,25 ± 0,36 <sup>cd</sup>
<b>A LEHMA</b>	3,10 ± 0,61 <sup>c</sup>	3,06 ± 0,68 <sup>c</sup>	1,46 ± 0,47 <sup>d</sup>	2,48 ± 0,59 <sup>cd</sup>
<b>OZ</b>	4,80 ± 0,55 <sup>a</sup>	3,14 ± 0,21 <sup>c</sup>	2,65 ± 0,53 <sup>cd</sup>	3,40 ± 0,40 <sup>c</sup>
<b>SIMETO</b>	4,81 ± 0,46 <sup>a</sup>	4,64 ± 0,43 <sup>a</sup>	3,17 ± 0,20 <sup>c</sup>	3,32 ± 1,37 <sup>c</sup>
<b>B MESTINA</b>	4,98 ± 0,47 <sup>a</sup>	3,77 ± 0,47 <sup>c</sup>	4,56 ± 0,47 <sup>b</sup>	4,46 ± 0,41 <sup>b</sup>
<b>VITRON</b>	4,42 ± 0,95 <sup>b</sup>	4,85 ± 0,29 <sup>a</sup>	2,90 ± 0,57 <sup>c</sup>	3,53 ± 0,35 <sup>c</sup>
<b>GTA DUR</b>	5,12 ± 0,34 <sup>a</sup>	3,97 ± 0,16 <sup>c</sup>	3,28 ± 0,83 <sup>c</sup>	4,00 ± 0,10 <sup>c</sup>
<b>CIRTA</b>	5,28 ± 0,81 <sup>a</sup>	4,66 ± 0,39 <sup>a</sup>	3,53 ± 0,53 <sup>c</sup>	3,89 ± 0,38 <sup>c</sup>

Les valeurs indiquent la moyenne ±SD (n=4). Les différentes lettres alphabétiques révèlent des différences significatives à  $p < 0,05$  selon le test de Student-Newman-Keuls

En conditions stressantes, l'addition de la proline a modifié significativement le contenu en protéines dans les feuilles de blé. La proline peut améliorer la stabilité des protéines et protéger l'intégrité des membranes en se liant aux liaisons hydrogènes (Hosseinifard *et al.*, 2022). De plus, la proline peut protéger les cellules en augmentant le potentiel d'absorption d'eau et en facilitant l'activation des enzymes. AlKahtani *et al.*, (2021) ont également rapporté un effet significatif de l'ajout de 10mM de proline sur le contenu en protéines dans des feuilles de canne à sucre soumises au stress hydrique. La proline peut fonctionner comme molécule chaperonne protégeant ainsi l'intégrité des protéines et contribuant à l'amélioration de l'activités des enzymes.

#### **2.4 Effets de la proline exogène sur la teneur en MDA et EL**

La concentration des MDA a connu une augmentation significative ( $p < 0,05$ ) dans les cellules foliaires des plantes en condition de stress (Tableau 15), ce qui reflète l'induction d'un stress oxydatif. Dans des conditions contrôles, les plantes témoins non traitées (C) et traitées par la proline exogène (C+P) présentaient des niveaux similaires de teneur en MDA, il n'y avait pas une différence significative à signalée. Par contre, les plantes exposées au stress par le PEG-6000 et traitées par la proline enregistrent une diminution significative des MDA qui est plus importante chez les variétés Simeto et OZ avec un taux de réduction de 74.31% et 54.84% respectivement.

*Troisième expérimentation : Evaluation de l'apport exogène de la proline sur le comportement morpho-physiologique et biochimique des variétés de blé dur soumises au stress hydrique*

**Tableau 15 :** Effets des différents traitements sur la teneur en MDA (nmol g<sup>-1</sup> MF) chez 10 variétés de blé dur

Génotype	Traitement			
	C	C+P	S	S+P
<b>WAHA</b>	15,69 ± 0,55e	15,09 ± 0,80e	36,56 ± 5,00c	16,65 ± 1,74e
<b>B17</b>	20,79 ± 1,20d	17,36 ± 1,09e	61,50 ± 2,08a	33,28 ± 2,25c
<b>WAHBI</b>	17,75 ± 0,92e	18,06 ± 2,31e	42,53 ± 1,28b	19,92 ± 1,24e
<b>A LEHMA</b>	21,73 ± 1,93d	23,70 ± 2,44d	41,87 ± 1,38b	20,91 ± 1,52d
<b>OZ</b>	20,83 ± 2,09d	20,60 ± 1,17d	50,49 ± 4,95b	22,78 ± 1,76d
<b>SIMETO</b>	16,36 ± 1,46e	17,24 ± 1,34e	55,13 ± 3,67a	14,16 ± 0,58e
<b>B MESTINA</b>	20,55 ± 1,87d	21,97 ± 2,89d	37,86 ± 4,10c	26,97 ± 4,88
<b>VITRON</b>	24,82 ± 1,49d	19,41 ± 2,20e	78,16 ± 5,40a	37,48 ± 3,77c
<b>GTA DUR</b>	31,71 ± 2,45c	27,17 ± 1,50d	48,91 ± 2,98b	48,63 ± 2,98b
<b>CIRTA</b>	31,75 ± 2,59c	26,71 ± 2,92d	47,11 ± 4,95b	30,62 ± 3,05c

Les valeurs indiquent la moyenne ±SD (n=4). Les différentes lettres alphabétiques révèlent des différences significatives à  $p < 0,05$  selon le test de Student-Newman-Keuls

Dans cette étude, une baisse significative de la teneur en MDA a été enregistrée dans les plantes traitées par la proline contrairement aux plantes non traitées soumises au déficit hydrique, suggérant que la proline a protégé l'intégrité des membranes contre les effets du PEG-6000. Ceci pourrait être dû à l'effet utile de la proline comme osmoprotectant dans la protection des cellules végétales contre le stress oxydatif par le mécanisme d'ajustement osmotique en plus de son rôle dans la stabilisation des protéines et le maintien d'un statut antioxydant dans des conditions déficitaires. Ces résultats sont conformes avec ceux de AlKahtani *et al.*, (2021) qui ont rapporté un effet significatif de l'ajout de 10mM de proline sur le contenu en MDA dans des feuilles de canne à sucre soumises au stress hydrique. De même Rasheed *et al.*, (2014) ont rapporté des résultats similaires sur des plantes de blé.

La libération relative d'électrolytes (EL) indique le degré de perméabilité de la membrane cellulaire. Le taux d'électrolyte a augmenté de manière significative ( $p < 0,05$ ) dans les feuilles de blé traitées par le PEG-6000. Les taux les plus élevés sont enregistrés chez les variétés Waha et Simeto avec un pourcentage d'augmentation de 64.32% et 59.11 % respectivement.

Toutefois, aucune différence significative n'a été détectée dans les conditions contrôles avec l'ajout de la proline. Cependant, dans des conditions déficitaires, les plantes traitées avec

*Troisième expérimentation : Evaluation de l'apport exogène de la proline sur le comportement morpho-physiologique et biochimique des variétés de blé dur soumises au stress hydrique*

la proline ont marqué une réduction importante ( $p < 0,05$ ) du taux d'électrolytes par rapport aux plantes stressées non traitées (Tableau 16).

**Tableau 16** : Effets des différents traitements sur EL (%) chez 10 variétés de blé dur

Génotype	Traitement			
	C	C+P	S	S+P
<b>WAHA</b>	6,71 ± 0,67c	6,12 ± 0,84c	16,41 ± 0,88a	8,12 ± 0,53c
<b>B17</b>	7,30 ± 0,74c	7,34 ± 0,57c	15,83 ± 1,46a	7,06 ± 0,56c
<b>WAHBI</b>	7,93 ± 0,83c	8,17 ± 0,60c	14,45 ± 0,88a	6,77 ± 0,71c
<b>A LEHMA</b>	7,84 ± 0,97c	8,21 ± 1,08c	11,53 ± 0,87b	8,78 ± 0,84c
<b>OZ</b>	6,75 ± 1,17c	8,08 ± 0,69c	13,65 ± 1,75a	9,02 ± 0,78b
<b>SIMETO</b>	6,33 ± 1,68c	7,55 ± 0,89c	17,75 ± 2,04a	11,16 ± 1,65b
<b>B MESTINA</b>	6,66 ± 1,12c	8,51 ± 0,61c	15,16 ± 2,50a	8,12 ± 1,18c
<b>VITRON</b>	5,81 ± 0,97c	6,36 ± 1,20c	14,16 ± 1,39a	9,61 ± 3,02b
<b>GTA DUR</b>	7,64 ± 1,20c	7,51 ± 1,20cc	14,58 ± 2,05a	10,23 ± 1,92b
<b>CIRTA</b>	7,12 ± 1,46c	8,91 ± 1,71	14,66 ± 3,55a	7,23 ± 1,95c

Les valeurs indiquent la moyenne ±SD (n=4). Les différentes lettres alphabétiques révèlent des différences significatives à  $p < 0,05$  selon le test de Student-Newman-Keuls

Nos résultats rejoignent ceux obtenus par des études antérieures : Guo *et al.*, (2022) ; AlKahtani *et al.*, (2021). Shahid *et al.*, (2014) qui ont montré que l'addition de la proline a abaissé sensiblement la peroxydation lipidique et les fuites d'électrolyte en condition de stress. Ce qui implique que l'application de proline a atténué les dommages oxydatifs causés par ROS.

## 2.5 Application de l'analyse en composantes principales sur les résultats des analyses morpho-physiologiques et biochimiques

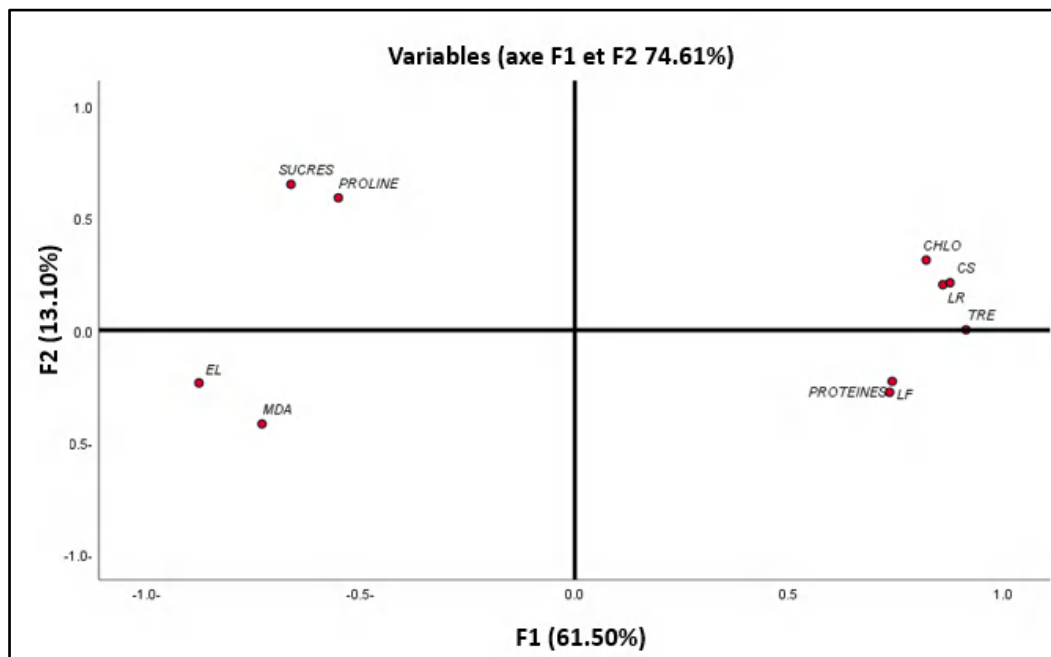
Dans le but de résumer l'information portée par les résultats obtenus sur les plantes de blé dur, suite aux analyses morpho-physiologiques et biochimiques, une analyse en composantes principales est effectuée. L'analyse en composante principale a été appliquée sur la matrice des corrélations, obtenue à partir de l'ensemble de variables quantitatives mesurées sur les 10 variétés et sous les différents traitements. La projection de l'ensemble des variétés sur les plans des principaux axes permet d'apprécier leurs dispersions et de mieux comparer la variabilité entre eux. Les corrélations entre les variables mesurées avec les axes F1 et F2 expliquent respectivement, 61.50 et 13.10 % soit un total de 74.61% d'information (Figure 34).

L'axe F1 est exprimé vers son pôle positif par la majorité des paramètres physiologiques : teneur relative en eau élevée, forte conductance stomatique, teneur en chlorophylle totale élevée et les paramètres de bon développement et croissance des plantes,



*Troisième expérimentation : Evaluation de l'apport exogène de la proline sur le comportement morpho-physiologique et biochimique des variétés de blé dur soumises au stress hydrique*

présentant de forte corrélation positif entre eux et reflétant un bon état hydrique de la plante. Le pôle négatif de l'axe F1 est exprimé par les indicateurs du stress oxydatif : la teneur en MDA et le taux de fuite d'électrolytes. Les deux groupes de variables portées par les pôles opposés de l'axe F1 expriment une corrélation négative (Figure 34), vu que les valeurs des paramètres du premier groupe augmentent alors que celles du second groupe diminuent. L'axe F2 est défini par les indicateurs de la réponse au stress hydrique : les teneurs en proline et sucres, paramètres impliqués dans l'osmo-ajustement, montrent une corrélation fortement positive.



**Figure 34 :** Cercle de corrélation de l'ACP des paramètres morpho-physiologiques et biochimiques des plantes de blé soumises aux différentes conditions expérimentales.

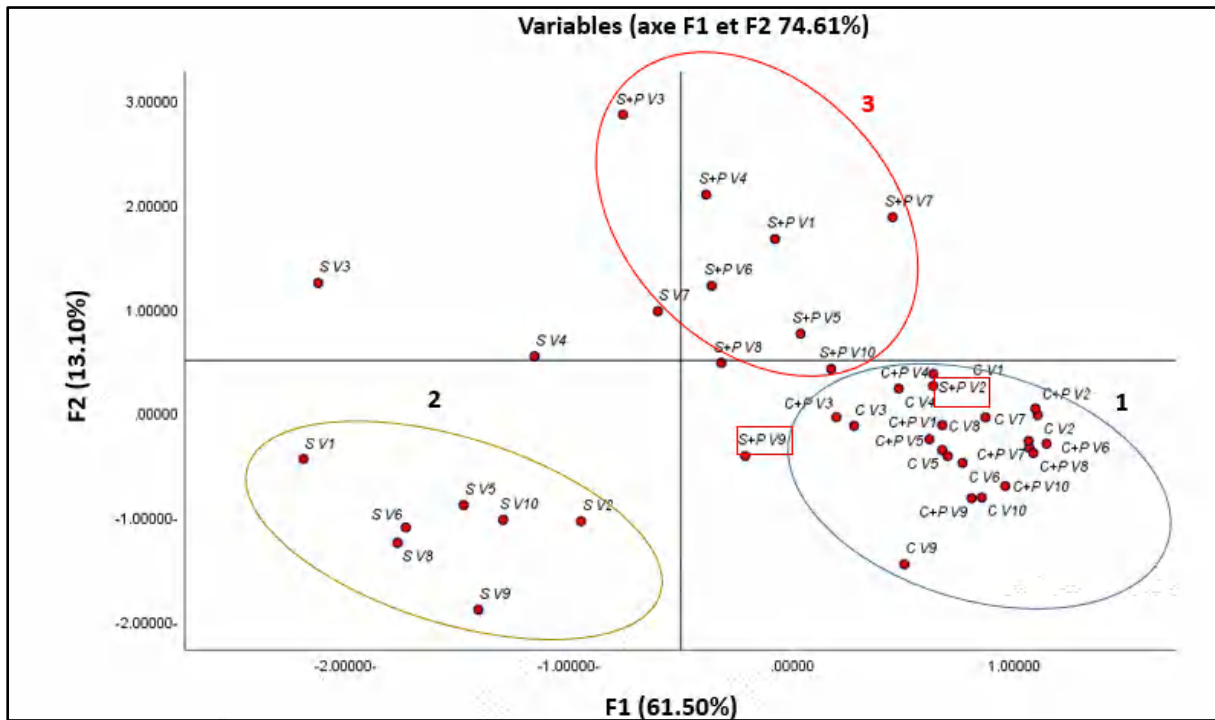
Concernant le graphique des observations (figure 35), et en tenant compte de la signification des axes, nous avons analysé la répartition des variétés soumises aux différentes conditions expérimentales. Nous remarquons bien que les plantes de blé témoins traitées avec la proline exogène (C+P) ou non (C) sont superposées, formant un seul groupe (1), sur le pôle positif de l'axe F1, ce qui explique que l'addition de la proline exogène dans des conditions contrôles n'a pas d'effet significatif sur la réponse des plantes. Ce groupe de plante se distingue par une teneur relative en eau et chlorophylle élevée, une forte conductance stomatique ainsi une bonne longueur racinaire et foliaire reflétant un bon état hydrique des plantes et une croissance adéquate dans des conditions de bonne hydratation.

Cependant les plantes stressées par l'ajout du PEG-6000 se retrouvent sur le pôle négatif de ce même axe (figure 35), et forment un seul groupe (2), fortement déterminé par des

*Troisième expérimentation : Evaluation de l'apport exogène de la proline sur le comportement morpho-physiologique et biochimique des variétés de blé dur soumises au stress hydrique*

marqueurs de stress oxydatifs, une teneur en MDA importante et un taux de fuite d'électrolytes élevé. Ceci confirme les modifications physiologiques et le déséquilibre de l'homéostasie des plantes suite à l'application du PEG-6000.

Par ailleurs, nous pouvons déduire que l'addition de la proline dans des conditions de stress permet d'isoler le groupe 3 des plantes stressées en le rapprochant du premier groupe reformant les plantes témoins, ceci reflète l'effet améliorateur de la proline sur la réponse des plantes aux effets néfastes. Il est important de signaler que les variétés B17 et GTA dur (2 et 9) traitées par la proline se comportent exactement comme les variétés témoins malgré les conditions de stress.



**Figure 35 :** Graphique des observations mettant en évidence les trois groupes distincts formés par l'ACP.

V1: waha ; V2 : B17 ; V3 : wahbi; V4: A lehma; V5: OZ; V6: Simeto; V7: B mestina; V8: vitron; V9: GTA dur; V10 : cirta

### 3 . Conclusion

Dans la présente étude, les génotypes de blé dur soumis à une contrainte hydrique par l'ajout du PEG-6000, ont été traités par la proline exogène afin de déterminer le rôle de cet osmolyte dans la réponse des plantes.

A la lumière de l'ensemble des résultats que nous avons présentés, il s'avère que l'addition de la proline exogène dans des conditions stressantes a amélioré efficacement la

*Troisième expérimentation : Evaluation de l'apport exogène de la proline sur le comportement morpho-physiologique et biochimique des variétés de blé dur soumises au stress hydrique*

réponse et la tolérance des plantes. Cet effet bénéfique sur la croissance foliaire et racinaire des plantes est accompagné par une amélioration du statut hydrique des plantes et une atténuation dans l'accumulation des MDA et le taux de fuite d'électrolytes, et par conséquent, il prévient l'altération de l'intégrité membranaire. D'autre part, l'intensité du stress a été atténuée suite à l'addition de la proline en amplifiant l'activité de l'ajustement osmotique à travers l'accumulation accrue des osmoprotectants. Tous ces effets ont permis à l'ensemble des plantes stressées de se distinguer et se comporter comme des plantes contrôles malgré la présence du PEG-6000.

**Quatrième expérimentation :**

*Analyse de l'expression des gènes impliqués dans la réponse au stress hydrique chez des variétés de blé dur soumises au stress hydrique.*

## **1.Introduction**

La tolérance au stress hydrique chez les plantes est un trait quantitatif complexe, régulé par de nombreux gènes. Une cascade de modification moléculaire se déclenche dès que la cellule aperçoit le stress (Vinocur et Altman, 2005), des signaux de perception du stress diffusent dans le cytoplasme et le noyau et activent l'expression ou la répression des gènes et l'accumulation des métabolites spécifiques.

Parmi les mécanismes important de tolérance aux contraintes du milieu est l'ajustement osmotique. Celui-ci est réalisé grâce à une accumulation active des composés osmoprotectants conduisant à un maintien d'équilibre osmotique au niveau cellulaire. Parmi les osmolytes fréquemment accumulée en condition de stress, la proline joue plusieurs rôles importants (déjà évoqué dans la partie bibliographique) est conféré une tolérance a la plante. Lors d'une contrainte hydrique, la proline est synthétisée principalement à partir du glutamate (Szabados and Savouré 2010). La chaîne de réactions commence par la réduction du glutamate en pyrroline-5-carboxylate (P5C) par la pyrroline-5-carboxylate synthétase (P5CS). Ce composé est ensuite réduit en proline par la P5C réductase (P5CR). Dans la plupart des espèces végétales, P5CS et P5CR sont codés par deux et un gène respectivement (Furlan *et al.*, 2020). Les concentrations intracellulaires en proline résultent ainsi d'une régulation fine entre sa biosynthèse et son catabolisme. Plusieurs études ont identifié la proline comme un biomarqueur de stress, son accumulation dans des conditions déficitaires en eau a été rapporté par plusieurs chercheurs chez différentes espèces végétales. Ainsi plusieurs études montrent une modification d'expression des gènes impliqué dans les voies de biosynthèse de cet osmolyte. L'étude de l'expression de ces gènes au niveau des cellules foliaires du blé dur traités ou non par le PEG-6000 (10%) a fait l'objet de cette dernière partie de la thèse. Les niveaux d'expression des gènes codant pour la proline et la glutamine ont été évalués par PCR quantitative en temps réel.

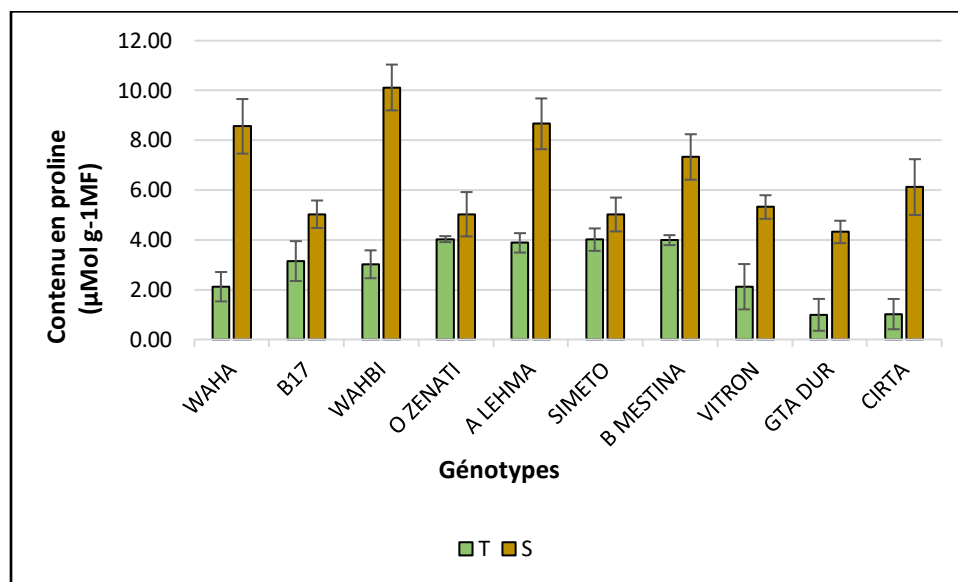
## **2.Résultats et discussion**

### **2.1 Effet du stress hydrique sur l'accumulation de la proline**

. En conditions contrôles, les génotypes étudiés présentent des valeurs de la teneur en proline comprises dans l'intervalle (1.02-4.01  $\mu\text{Mol g}^{-1}\text{MF}$ ). Des valeurs qui restent plus faibles comparé au teneurs enregistrées dans des conditions déficitaires. En conditions de stress, une nette

Quatrième expérimentation : *Analyse de l'expression des gènes impliqués dans la réponse au stress hydrique chez des variétés de blé dur soumises au stress hydrique*

augmentation de la teneur en proline est enregistrée chez l'ensemble des géotypes (Figure 36). Elle est significativement plus importante chez les géotypes Waha et Wahbi et Ain Lehma.



**Figure 36** : Variation de l'accumulation de la proline chez dix géotypes de blé dur soumis au stress hydrique dans des conditions contrôles (T) et des conditions de stress (S).

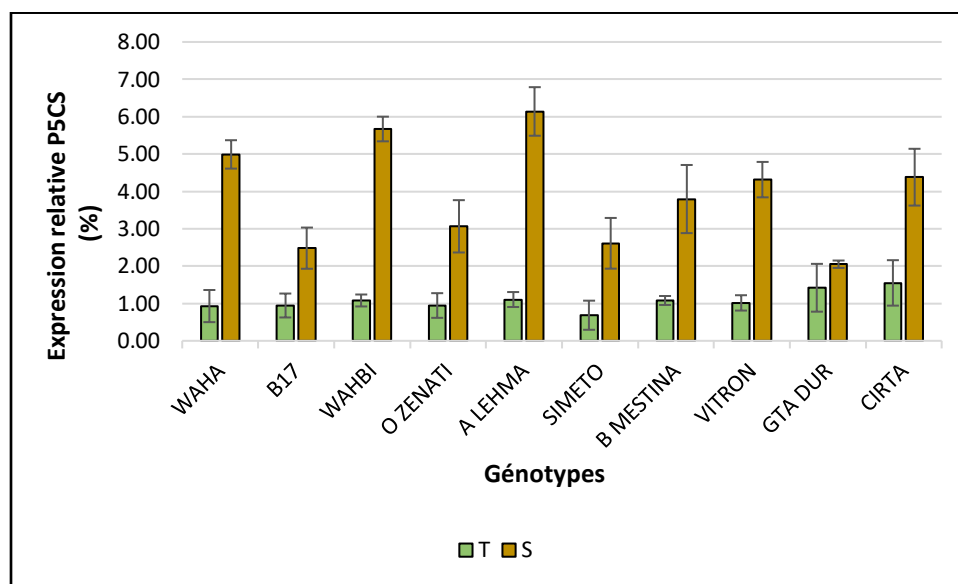
## 2.2 Effet du stress hydrique sur l'expression des gènes P5CS et P5CR

Comme il a été présenté auparavant, les enzymes responsables de la synthèse de la proline sont la P5CS et la P5CR d'où le choix de l'étude du niveau d'expression de ces gènes chez les différentes variétés de blé dur dans des conditions déficitaires et des conditions contrôles. L'utilisation de la technique de la PCR quantitative nécessite l'utilisation d'un gène contrôle de l'expression supposé s'exprimer à un niveau constant dans tous les tissus d'un organisme, à tous les stades de développement, et ne serait pas affecté par les traitements appliqués. Pour notre étude, nous avons opté pour le gène Actine dont l'expression dans les feuilles ne variait statistiquement pas quelque soient les conditions et la provenance. L'expression différentielle des gènes choisis en réponse à la contrainte hydrique est présentée dans les figures (37-38).

L'analyse du niveau d'expression des gènes a été réalisée par RT-PCR quantitative chez les dix variétés de blé dur soumises à un stress osmotique par l'ajout du PEG-6000 (10%). L'analyse de variance a révélé des différences significatives ( $p < 0,05$ ) entre les différentes expressions des gènes étudiés.

Quatrième expérimentation : *Analyse de l'expression des gènes impliqués dans la réponse au stress hydrique chez des variétés de blé dur soumises au stress hydrique*

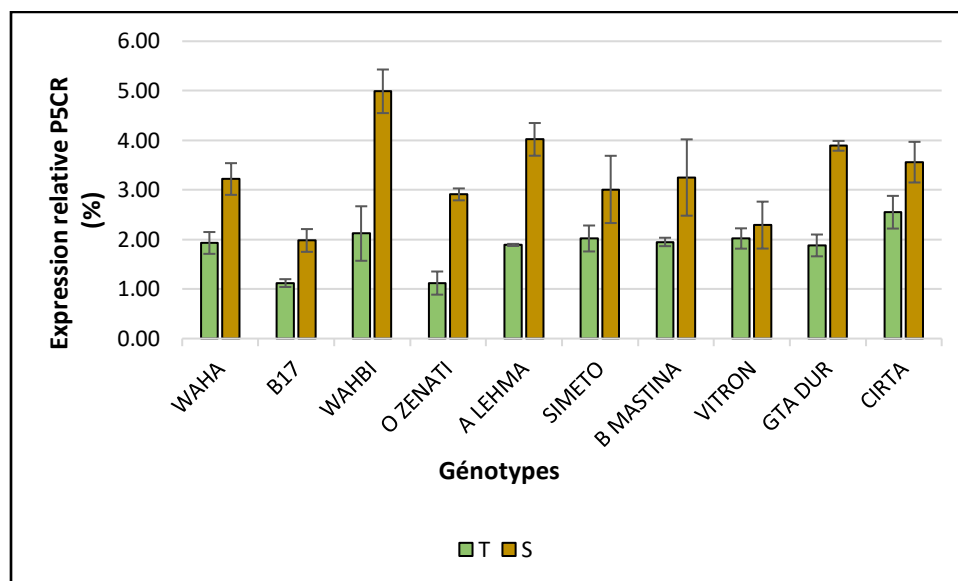
Les résultats obtenus indiquent une expression du gène P5CS1 dans les feuilles de l'ensemble des géotypes étudiés aussi bien dans des conditions contrôles que dans des conditions de stress hydrique (Figure 37). Cependant, une surexpression du gène est enregistrée en condition de stress où les niveaux d'expression ont augmenté en moyenne de trois fois dans les échantillons stressés par rapport au contrôles. Nous avons constaté que le niveau d'expression de ce gène suit exactement les variations dans l'accumulation de la proline dans des conditions déficitaires. Les variétés Wahbi et A lehma ont enregistrées les valeurs les plus élevées d'expression du P5CS1.



**Figure 37** : Variation de l'expression relative du gène de P5CS1 chez dix géotypes de blé dur soumis au stress hydrique dans des conditions contrôles (T) et des conditions de stress (S).

De même que pour le gène P5CS1, l'expression du gène P5CR a été détecté dans les feuilles de l'ensemble des géotypes en condition de stress. Toutefois cette surexpression a connu des variations entre les géotypes, elle est plus importante chez les variétés Wahbi et Gta dur (Figure 38).

Quatrième expérimentation : *Analyse de l'expression des gènes impliqués dans la réponse au stress hydrique chez des variétés de blé dur soumises au stress hydrique*



**Figure 38** : Variation de l'expression relative du gène de P5CR chez dix génotypes de blé dur soumis au stress hydrique dans des conditions contrôles (T) et des conditions de stress (S).

La surexpression du gène P5CS1 peut être un indicateur de tolérance au stress hydrique. Notre étude a montré que l'exposition des plantes au stress induit par PEG 10% entraîne une réponse rapide, augmentant le niveau d'expression des gènes P5CS et P5CR. Cette observation soutient l'hypothèse selon laquelle le principal mécanisme sous-jacent à la biosynthèse de la proline est régulé au niveau transcriptionnel. Ce mécanisme a également été signalé chez plusieurs espèces végétales pendant le stress hydrique. Une augmentation des niveaux de transcription du P5CS a été signalée chez *Oryza sativa L* après exposition au stress pendant 2h et 5h (Choudhary *et al.*, 2005); chez *A. thaliana* après 5 et 12 h d'exposition au stress hydrique (Peng, *et al* 2006) .

Nos résultats ont montré un niveau d'expression P5CS1 plus élevé dans les génotypes tolérants à la sécheresse comparé aux génotypes sensibles. Il en est de même dans les résultats obtenus par Choudhary *et al.*, (2005), où ils ont trouvé dans la plupart des lignées de riz testées, le gène P5CS a montré une induction immédiate après 1 heure de stress, tandis que des changements de P5CR ont été observés après 3 ou 6 heures. Ces résultats suggèrent que le gène P5CS joue un rôle clé dans la biosynthèse de la proline et la réponse des plantes à une sécheresse à court terme.

Des profils d'expression similaires ont été signalés pour *A. thaliana*. Des changements dans l'expression du gène AtP5CS ont été détectés après 2 heures et dans AtP5CR après 24 heures de



Quatrième expérimentation : *Analyse de l'expression des gènes impliqués dans la réponse au stress hydrique chez des variétés de blé dur soumises au stress hydrique*

stress osmotique. Ces résultats peuvent indiquer que le produit du gène P5CS pourrait également induire l'expression P5CR.

Ainsi, on pourrait suggérer qu'en cas de sécheresse, la régulation ascendante du gène P5CS peut améliorer la tolérance à la sécheresse en provoquant une concentration plus élevée de proline. Des enquêtes similaires approuvent également ce résultat (Wang *et al.*, 2018; Bandurska *et al.*, 2017; Chakraborty et Pradhan 2012 ; Nasirzadeh *et al.*, 2021). De plus, une expression P5CS plus élevée et une plus grande tolérance dans des conditions de sécheresse ont été signalées dans le blé (Dudziak *et al.*, 2019) et l'orge (Bandurska *et al.*, 2017). Le niveau élevé de transcriptions P5CS sous stress osmotique peut être attribué aux signaux dérivés du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et aux voies dépendantes de l'ABA (Bandurska *et al.* 2017).

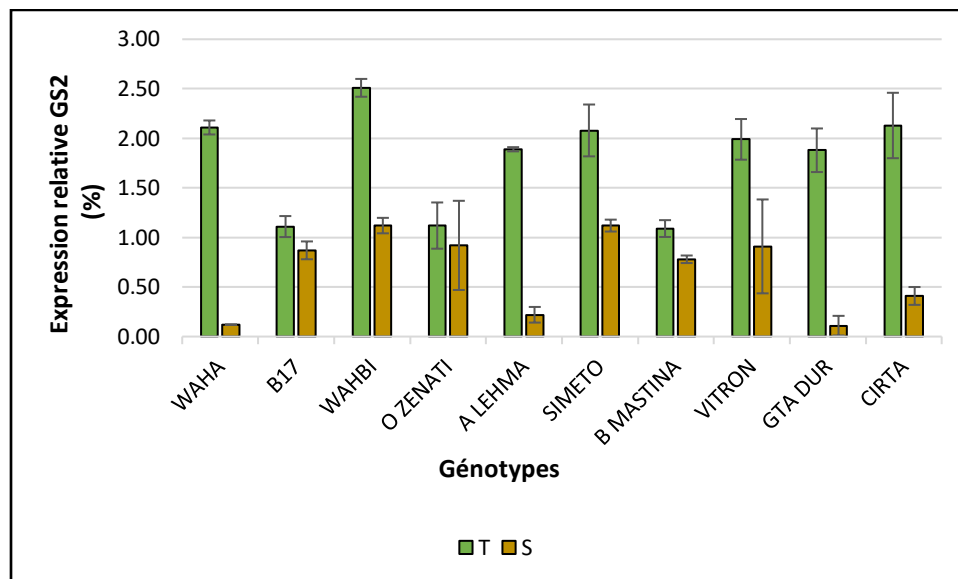
Selon Jamshidi Goharrizi *et al.*, (2022) en condition de stress hydrique l'augmentation des niveaux d'expression des gènes P5CS et P5CR était plus importantes chez les génotypes tolérants que chez les génotypes sensibles. Ces chercheurs ont annoncé que ces gènes peuvent être induit par la sécheresse et peuvent être utilisés pour améliorer la tolérance chez le blé.

### **2.3 Effet du stress hydrique sur l'expression du gène de la GS**

La glutamine synthétase (GS), avec ses deux isoformes (cytosolique GS1 et plastidique GS2), est un indicateur potentiel de l'état nutritionnel des plantes; cette enzyme est codée par un ensemble de gènes régulés principalement par la disponibilité de l'azote, mais aussi par le stress abiotique comme la sécheresse (Bernard, et Habash ,2009).

L'expression des gènes, GS2, a été étudiée par l'analyse qRT-PCR. Les résultats ont montré une diminution significative de l'expression de GS2 dans tous les génotypes testés sous contrainte osmotique. L'expression GS2 (isoforme cytosolique) a diminué de façon similaire (55 à 65 %) dans tous les génotypes (Figure 39).

Quatrième expérimentation : *Analyse de l'expression des gènes impliqués dans la réponse au stress hydrique chez des variétés de blé dur soumises au stress hydrique*



**Figure 39:** Variation de l'expression relative du gène de GS chez dix génotypes de blé dur soumis au stress hydrique.

Contrairement aux gènes P5CS et P5CR, les niveaux d'expression du gène GS diminuaient dans nos conditions expérimentales et aucune corrélation significative entre la synthèse de la proline et l'expression de GS2 est détectée. Des résultats contrastés sont décrits dans la littérature sur ce sujet. Singh, et Ghosh., (2013) ont rapporté une expression des gènes OsGS2 et OsGS1;1 et qui a contribué à la tolérance à la sécheresse des cultivars de riz dans des conditions de stress hydrique.

### 3. Conclusion

Les résultats de cette étude ont clairement démontré l'expression des gènes de la biosynthèse de la proline en réponse au stress hydrique induit par le PEG-6000. Le niveau d'expression des gènes est spécifique pour chaque génotype.

La surexpression des gènes P5CS et P5CR responsable de l'accumulation de la proline peut conduire à une meilleure tolérance au stress hydrique. Tandis que le gène GS2 a été négativement régulé par le stress. De plus les niveaux d'expression des gènes étudiés (P5CS et P5CR) ont été plus marqués chez les variétés A Lehma et Wahbi. Cela suggère que les variétés étudiées peuvent reprogrammer la régulation de l'expression de ces gènes en condition de stress hydrique.

Quatrième expérimentation : *Analyse de l'expression des gènes impliqués dans la réponse au stress hydrique chez des variétés de blé dur soumises au stress hydrique*

L'expression des gènes P5CR et P5CS en fait des bons candidats pour la synthèse de la proline sous condition de stress hydrique en assurant le mécanisme d'ajustement osmotique.

L'identification de ces gènes peut-être d'un grand intérêt en procurant des données extrêmement utiles afin d'améliorer la tolérance au stress hydrique chez le blé dur.

# *Conclusions Et Perspectives*

## *Conclusion générale*

Face à des enjeux environnementaux renforcés, les changements climatiques, constituent une menace croissante sur la production agricole. Cette dernière est confrontée à une multitude de stress abiotique, dont le déficit hydrique, l'un des facteurs les plus importants affectant la croissance et le rendement des cultures. Il convient donc de sélectionner les variétés à haut rendement et résilientes aux stress hydriques pour une production durable dans le contexte climatique actuel. Avant cette sélection, la connaissance des caractéristiques génétiques du matériel végétal ainsi phénotypiques est un passage obligatoire avant l'amélioration génétique.

Les travaux de recherche de cette étude avaient comme objectifs de caractériser le comportement morphologiques, physiologique et biochimique de dix plantes de blé dur soumises au stress hydrique par un arrêt d'arrosage dans des condition semi contrôlées. L'expérimentation conduite a fait ressortir un effet significatif du stress hydrique se traduisant par des troubles physiologiques et biochimiques chez l'ensemble des variétés. Une perturbation du statut hydrique et du métabolisme des plantes est signalée accompagnée par une variation de la teneur en MDA et la fuite des électrolytes, provoquant une forte peroxydation lipidique, donc le déficit hydrique a généré un stress oxydatif dans les cellules végétales. A l'issu de cette étude, il est constaté que les génotypes Waha, Bidi 17 et Wahbi, ont montré une grande capacité à maintenir un statut hydrique élevé et une forte accumulation de proline ainsi que des dommages oxydatifs mineurs ce qui reflète une meilleure tolérance au stress hydrique.

La deuxième expérimentation, s'est fixée comme objectif, d'évaluer la variabilité existante entre les variétés étudiées au cours des deux années d'essai vis-à-vis les conditions environnementales du milieu, en mettant l'accent sur des traits physiologiques, biochimiques et agronomiques, vue leurs importance en tant que critères de sélection et leurs utilisations dans le criblage des génotypes adaptés et performants dans les conditions intrinsèques du milieu. Les résultats obtenus au cours des deux années d'étude révèlent que l'ensemble des caractères agronomiques, physiologiques et biochimiques restent influencés par la disponibilité en eau. Les rendements considérés notables sont réalisés par les variétés GTA dur, Ain Lehma, Beni Mestina et Wahbi durant les deux campagnes ; ils sont étroitement liés au nombre d'épi par m<sup>2</sup> et le nombre de grain par épi. Par ailleurs, l'accumulation de la proline, représente aussi un révélateur de rendement fortement exprimée durant la deuxième campagne. En effet, ce paramètre exprime le niveau de capacité du génotype à contrer les effets du stress par le maintien de l'ajustement

## *Conclusion générale*

osmotique. Ces paramètres représentent une résultante qui génère une plateforme de sélection de cultivars à rendement potentiel.

La troisième expérimentation avait pour but d'évaluer les conséquences de l'application de la proline exogène en conditions de stress hydrique stimulé par le PEG-6000. Dans l'ensemble, il s'avère que l'addition exogène de la proline dans des conditions stressantes a amélioré efficacement la réponse et la tolérance des plantes. Cet effet bénéfique sur la croissance des plantes et accompagné par une amélioration du statut hydrique des plantes et une atténuation dans l'accumulation des MDA et le taux de fuite d'électrolytes, et par conséquent, minimise l'altération de l'intégrité membranaire. D'autre part, l'intensité du stress a été atténuée suite à l'addition de la proline en amplifiant l'activité de l'ajustement osmotique à travers l'accumulation accrue des osmoprotectants. Tous ces effets ont permis à l'ensemble des plantes stressées de se distinguer et se comporter comme des plantes contrôles malgré la présence du PEG-6000.

La dernière partie de cette recherche a été consacré à l'étude de l'expression des gènes de la biosynthèse de la proline. L'utilisation de la RT-PCR quantitative, nous a permis d'évaluer l'expression relative des transcrits P5CS, P5CR et GS. Les résultats obtenus ont mis en évidence la surexpression des gènes impliqués dans la réponse des plantes au stress hydrique, il s'agit des gènes de biosynthèse de la proline à savoir P5CS et P5CR tandis que le gène de la GS2 a connu une baisse de régulation. Le niveau d'expression des gènes est spécifique pour chaque génotype.

La surexpression des gènes P5CS et P5CR responsable de l'accumulation de la proline peut conduire à une meilleure tolérance au stress hydrique. De plus les niveaux d'expression des gènes étudiés ont été plus marqués chez les variétés A lehma et Wahbi. Cela suggère que les variétés étudiées peuvent reprogrammer la régulation de l'expression de ces gènes en condition de stress hydrique. L'expression des gènes P5CR et P5CS en fait des bons candidats pour la synthèse de la proline sous condition de stress hydrique en assurant le mécanisme d'ajustement osmotique. L'identification de ces gènes peut-être d'un grand intérêt en procurant des données extrêmement utiles afin d'améliorer la tolérance au stress hydrique chez le blé dur.

Comme perspectives à cette étude, il semble important de vérifier les résultats obtenus par d'autres études complémentaires, qui portent sur d'autres génotypes afin d'élargir la variabilité génotypique.

### *Conclusion générale*

L'identification des connexions existantes entre les gènes de biosynthèse de la proline en réponses au stress qui sont positivement régulées, est très utile et sert de point de départ pour diverses approches biotechnologiques.

Elaborer une étude sur l'expression des gènes de tolérance à des stages plus tardifs, tant que le milieu de production se caractérise par des stress de fin de cycle et élargir l'analyse de l'expression d'un nombre plus important de gènes, et pour différents scénarios de stress hydrique mérite d'être conduite afin d'identifier les gènes intervenant dans la tolérance au stress hydrique, vu que l'adaptation au stress hydrique, est un phénomène à caractère multigénique,

# *Références Bibliographiques*



## Références bibliographiques

- Abobatta, W.F. (2019). Drought adaptive mechanisms of plants: A review. *Advances in Agriculture and Environmental Science*, 2(1), 42–45
- Agami, R. (2014). Applications of ascorbic acid or proline increase resistance to salt stress in barley seedlings. *Biol. Plant*, 58, 341–34
- Ahmad, R., Jamil, S., Shahzad, M., Zörb, C., Irshad, U., Khan, N. & Khan, S. A. (2017). Metabolic profiling to elucidate genetic elements due to salt stress. *CLEAN–Soil, Air, Water*, 45(12), 1600574.
- Akram, S., Ayyub, C. M., Shahzad, M., & Shahzad, A. (2021). Role of proline in mitigating the deleterious effects of heat stress in chillies. *Contemporary Agriculture*, 70(1-2), 28-35.
- AlKahtani, M. D., Hafez, Y. M., Attia, K., Rashwan, E., Husnain, L. A., AlGwaiz, H. I., & Abdelaal, K. A. (2021). Evaluation of silicon and proline application on the oxidative machinery in drought-stressed sugar beet. *Antioxidants*, 10(3), 398.
- Allam, A; Tirichine, A; Madani, H; Benlamoudi, W et Attali, Y. (2015). Évaluation agro morphologique des cultivars locaux de blé dur: *triticum durum* desf. Cultivés dans les palmeraies de la vallée d'oued Righi (sud-est algérien). *Revue des Bio Ressources* 5.
- Amallah, L. (2017). Structuration de la variabilité génétique d'une collection de blé dur au Maroc par les marqueurs agro-morphologiques, physico-chimiques, biochimiques et moléculaires et étude des associations marqueurs SSR – paramètres de qualité. Thèse de Doctorat. Rabat
- Ansari, W.A., Atri, N., Pandey, M., Singh, A.K., Singh, B. & Pandey, S. (2019). Influence of drought stress on morphological, physiological and biochemical attributes of plants: A review. *Biosciences, Biotechnology Research Asia*, 16(4), 697–709
- Ashraf, M. F. M. R., & Foolad, M. R. (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and experimental botany*, 59(2), 206-216.
- Ashrafi, M.; Azimi-Moqadam, M.R.; Mohsenifard, E.; Shekari, F.; Jafary, H.; Moradi, P.; Pucci, M.; Abate, G.; Mastinu, A. (2022). Physiological and Molecular Aspects of Two Thymus Species Differently Sensitive to Drought Stress. *BioTech*, 11, 8.
- Bahlouli F., Bouzerzour H., Benmahammed A., Assous K. L.(2006). Etude des liaisons entre le rendement, la durée de vie de la feuille étendard, la vitesse de remplissage et la remobilisation des assimilés de la tige du blé dur (*Triticum durum* L.). *Annales de l'institut national agronomique- El-Harrach*. 27: N° 1et 2.
- Batlang, U. (2010). *Identification of Drought-Responsive Genes and Validation for Drought Resistance in Rice* (Doctoral dissertation, Virginia Polytechnic Institute and State University). 3-18.
- Bandurska, H., Niedziela, J., Pietrowska-Borek, M., Nuc, K., Chadzinikolau, T., & Radzikowska, D. (2017). Regulation of proline biosynthesis and resistance to drought stress in two barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes of different origin. *Plant Physiology and Biochemistry*, 118, 427-437.
- Bandurska, H., Stroiński, A., & Kubiś, J. (2003). The effect of jasmonic acid on the accumulation of ABA, proline and spermidine and its influence on membrane injury under water deficit in two barley genotypes. *Acta physiologiae plantarum*, 25(3), 279-285.
- Barrs HD, Weatherley PE. (1962). A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. *Australian Journal of Biological Sciences* 15: 413–428.

## Références bibliographiques

- Bayoumi, T. Y., Eid, M. H., & Metwali, E. M. (2008). Application of physiological and biochemical indices as a screening technique for drought tolerance in wheat genotypes. *African Journal of Biotechnology*, 7(14).
- Bekka, S., abrous-belbachir, O., & Djebbar, R. (2018). Effects of exogenous proline on the physiological characteristics of *Triticum aestivum* L. and *Lens culinaris* Medik. under drought stress. *Acta Agriculturae Slovenica*, 111(2), 477-491.
- Belagrouz, A., & Chennafi, H. (2016). Analyse du comportement Du Blé Tendre sous labours contrastes. Éditions universitaires européennes.
- Belaid, A., HADJEL, M., & HASSINI, N. (2012). Effects of drought on winter wheat yields in a semi-arid region. In *Water resources and wetlands*, Editors: Petre Gâştescu, William Lewis Jr., Petre Breţcan. Conference Proceedings (14-16).
- Ben Ahmed, C., Ben Rouina, B., Sensoy, S., Boukhriss, M., & Ben Abdullah, F. (2010). Exogenous proline effects on photosynthetic performance and antioxidant defense system of young olive tree. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(7), 4216-4222.
- Benbelkacem, A., & Kellou, K. (2000). Évaluation du progrès génétique chez quelques variétés de blé dur (*Triticum turgidum* L. var. durum) cultivées en Algérie. *Durum wheat improvement in the Mediterranean region: new challenges. CIHEAM-IAMZ, Zaragoza, Spain*, 5-110.
- Belkharchouche, H., Fellah, S., Bouzerzour, H., Benmahammed, A., & Chellal, N. (2013). Vigueur de croissance, translocation et rendement en grains du blé dur (*Triticum durum* Desf) sous conditions semi arides.
- Bensemmane L. (2015). Analyse de l'adaptation de l'orge (*Hordeum vulgare* L.) sous condition semi-arides. Thèse de doctorat en sciences, Fac. SNV, Université Ferhat Abbas Sétif-1, 133p
- Bernard, S. M., Møller, A. L. B., Dionisio, G., Kichey, T., Jahn, T. P., Dubois, F & Habash, D. Z. (2008). Gene expression, cellular localisation and function of glutamine synthetase isozymes in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant molecular biology*, 67, 89-105.
- Bernard, S.M.; Habash, D.Z. (2009). The importance of cytosolic glutamine synthetase in nitrogen assimilation and recycling. *N. Phytol*, 182, 608–620.
- Bhusan, D., Das, D. K., Hossain, M., Murata, Y., & Hoque, M. A. (2016). Improvement of salt tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) by increasing antioxidant defense systems using exogenous application of proline. *Australian Journal of Crop Science*, 10(1), 50-56.
- Biancucci, M., Mattioli, R., Forlani, G., Funck, D., Costantino, P., & Trovato, M. (2015). Role of proline and GABA in sexual reproduction of angiosperms. *Frontiers in Plant Science*, 6, 680.
- Biancucci, M., Mattioli, R., Mouellef, A., Ykhlef, N., & Trovato, M. (2018). Role of Glutamate-Derived Amino Acids under Stress Conditions: The Case of Glutamine and Proline. In *Metabolic Adaptations in Plants During Abiotic Stress* (pp. 157-170). CRC Press.
- Bonjean AP, Angus WJ and Van Ginkel M.(2016). *The World Wheat Book: A History of Wheat Breeding*; Volume 3. Lavoisier: Paris, France.
- Bouchemal, K., Bouldjadj, R., Belbekri, M. N., Ykhlef, N., & Djekoun, A. (2017). Differences in antioxidant enzyme activities and oxidative markers in ten wheat (*Triticum durum* Desf.) genotypes in response to drought, heat and paraquat stress. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 63(5), 710-722.

## Références bibliographiques

- Bousba R, Djekoun A, Duraa S, Ykhlef N. (2013). Caractérisation moléculaire et association marqueur SSR phénotype pour la tolérance au stress hydrique chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.). *European Scientific Journal* 9: 186–201.
- Bouziani, Y., Benmoussa, M., & Biotechnologies, B. P. (2015). Impact de l'interaction génotype-environnement sur le rendement et ses composantes d'une gamme variétale de blé tendre (*Triticum aestivum* em thell). *Revue Agrobiologia*, 7, 51-56.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
- Bruce, T.J.; Matthes, M.C.; Napier, J.A.; Pickett, J.A. (2007). Stressful “memories” of plants: Evidence and possible mechanisms. *Plant Sci*, 173, 603–608
- Cacefo, V., Ribas, A. F., & Vieira, L. G. E. (2023). Proline metabolism as a mechanism for the energy dissipation in VaP5CSF129A transgenic tobacco plants under water deficit. *Journal of Plant Physiology*, 283, 153964.
- Casadebaig P, Debaeke P, Lecoeur J. (2008). Thresholds for leaf expansion and transpiration response to soil water deficit in a range of sunflower genotypes. *European Journal of Agronomy* 28: 646–654.
- Celiktopuz, E., Kapur, B., Sarıdas, M. A., Güney, O. İ., & Aksoy, F. (2023). Yield, quality and physiological variation of strawberry in response to irrigation regimes and exogenous proline with a cost benefit analysis. *Plant Physiology and Biochemistry*.
- Chakraborty, U., & Pradhan, B. (2012). Oxidative stress in five wheat varieties (*Triticum aestivum* L.) exposed to water stress and study of their antioxidant enzyme defense system, water stress responsive metabolites and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> accumulation. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 24, 117-130.
- Chaves, M. M., Maroco, J. P., & Pereira, J. S. (2003). Understanding plant responses to drought—from genes to the whole plant. *Functional plant biology*, 30(3), 239-264.
- Cheng, L., Wang, Y., He, Q., Li, H., Zhang, X., & Zhang, F. (2016). Comparative proteomics illustrates the complexity of drought resistance mechanisms in two wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars under dehydration and rehydration. *BMC plant biology*, 16(1), 1-23.
- Chennafi, H., Aïdaoui, A., Bouzerzour, H., & Saci, A. (2006). Yield response of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivar Waha to deficit irrigation under semi arid growth conditions. *Asian Journal of Plant Sciences*.
- Choudhary, N. L., Sairam, R. K. & Tyagi, A. (2005). Expression of delta1-pyrroline-5-carboxylate synthetase gene during drought in rice (*Oryza sativa* L.). *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics* 42(6), 366–370.
- Chourghal N., Lhomme J. P., Huard F., & Aidaoui A. (2016). Climate change in Algeria and its impact on durum wheat. *Regional Environmental Change*, 16(6), 1623- 1634.
- Clavel, D., Drame, N. K., Diop, N. D., & Zuily-Fodil, Y. (2005). Adaptation à la sécheresse et création variétale: le cas de l'arachide en zone sahélienne. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*, 12(3), 248-260.
- Dar, M. I., Naikoo, M. I., Rehman, F., Naushin, F., & Khan, F. A. (2016). Proline accumulation in plants: roles in stress tolerance and plant development. *Osmolytes and plants acclimation to changing environment: emerging omics technologies*, 155-166.
- Daryanto, S., Wang, L., & Jacinthe, P. A. (2016). Global synthesis of drought effects on maize and wheat production. *PloS one*, 11(5), e0156362.

## Références bibliographiques

- Debaeke, P., Puech, J. et Casals, M.L. (1996). Elaboration du rendement du blé d'hiver en conditions de déficit hydrique. I. Etude en lysimètres. *Agronomie*, 16 : 3-23
- Demiralay, M.; Altuntaş, C.; Sezgin, A.; Terzi, R.; KADIOĞLU, A. (2017). Application of proline to root medium is more effective for amelioration of photosynthetic damages as compared to foliar spraying or seed soaking in maize seedlings under short-term drought. *Turk. J. Biol.*, 41, 649–660
- Dias de Oliveria, E., Bramley, H., Siddique, K.H.M., Henty, S., Berger, J., and Palta, J.A. (2013). Can elevated CO<sub>2</sub> combined with high temperature ameliorate the effect of terminal drought in wheat? *Func. Plant Biol.* 40: 160–171.
- Dias, M. C., & Brüggemann, W. (2010). Limitations of photosynthesis in *Phaseolus vulgaris* under drought stress: gas exchange, chlorophyll fluorescence and Calvin cycle enzymes. *Photosynthetica*, 48, 96-102.
- Díaz, P., Betti, M., Sánchez, D. H., Udvardi, M. K., Monza, J., & Márquez, A. J. (2010). Deficiency in plastidic glutamine synthetase alters proline metabolism and transcriptomic response in *Lotus japonicus* under drought stress. *New Phytologist*, 188(4), 1001-1013.
- Dien, D. C., Mochizuki, T., & Yamakawa, T. (2019). Effect of various drought stresses and subsequent recovery on proline, total soluble sugar and starch metabolisms in Rice (*Oryza sativa* L.) varieties. *Plant Production Science*, 22(4), 530-545.
- Ding, Y., Xu, J., Wang, X., Peng, X., & Cai, H. (2020). Spatial and temporal effects of drought on Chinese vegetation under different coverage levels. *Science of the Total Environment*, 716, 137166.
- Dos Santos, A. R., Melo, Y. L., de Oliveira, L. F., Cavalcante, I. E., de Souza Ferraz, R. L., da Silva Sá, F. V., & de Melo, A. S. (2022). Exogenous silicon and proline modulate osmoprotection and antioxidant activity in cowpea under drought stress. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 22(2), 1692-1699.
- Du, L., Tian, Q., Yu, T., Meng, Q., Jancso, T., Udvardy, P., & Huang, Y. (2013). A comprehensive drought monitoring method integrating MODIS and TRMM data. *International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation*, 23, 245-253.
- Du, P., Arndt, S. K., & Farrell, C. (2019). Is plant survival on green roofs related to their drought response, water use or climate of origin?. *Science of the Total Environment*, 667, 25-32.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. T., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry*, 28(3), 350-356.
- Dudziak, K., Zapalska, M., Börner, A., Szczerba, H., Kowalczyk, K., & Nowak, M. (2019). Analysis of wheat gene expression related to the oxidative stress response and signal transduction under short-term osmotic stress. *Scientific Reports*, 9(1), 1-14.
- Duggan, B. L., & Fowler, D. B. (2006). Yield structure and kernel potential of winter wheat on the Canadian prairies. *Crop science*, 46(4), 1479-1487.
- Erchidi, A. E., Benbella, M., & Talouizte, A. (2000). Croissance du grain chez neuf cultivars de blé dur. *Zaragoza: CIHAM-IAMZ*, 137-140.
- Fábián, A., Jäger, K., & Barnabás, B. (2013). Developmental stage dependency of the effect of drought stress on photosynthesis in winter wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties. *Acta Agronomica Hungarica*, 61(1), 13-21.
- Farkas, Z., Varga-László, E., Anda, A., Veisz, O., Varga, B. (2020). Effects of Waterlogging, Drought and Their Combination on Yield and Water-Use Efficiency of Five Hungarian Winter Wheat Varieties. *Water*, 12, 1318

## Références bibliographiques

- Farooq, M., Hussain, M., & Siddique, K. H. (2014). Drought stress in wheat during flowering and grainfilling periods. *Critical reviews in plant sciences*, 33(4), 331-349.
- Farooq, M.; Nawaz, A.; Chaudhry, M.; Indrasti, R.; Rehman, A. (2017). Improving resistance against terminal drought in bread wheat by exogenous application of proline and gamma-aminobutyric acid. *J. Agron. Crop Sci*, 203, 464-472.
- Feldman, M., Lupton, F.G.H., and Miller, T.E. (1995). Wheats. In *Evolution of Crop Plants*, 2nd ed, J. Smartt and N.W. Simmonds, eds (London: Longman Scientific), pp. 184-192.
- Fellah, A., Bouzerzour, H., Benmahammed, A., & Djerkoun, A. (2002). Sélection pour améliorer la tolérance aux stress abiotiques chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.). *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 22(3), 161-168.
- Fichman Y, Gerdes SY, Kovács H, Szabados L, Zilberstein A, Csonka LN.(2015). Evolution of proline biosynthesis: enzymology, bioinformatics, genetics, and transcriptional regulation. *Biological reviews*. 90(4):1065-99.
- Fischer, R. A., Sayre, K. D., & Reynolds, M. P. (2005). Osmotic adjustment in wheat in relation to grain yield under water deficit environments. *Agronomy Journal*, 97(4), 1062-1071.
- Furlan, A. L., Bianucci, E., Giordano, W., Castro, S., & Becker, D. F. (2020). Proline metabolic dynamics and implications in drought tolerance of peanut plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 151, 566-578.
- Ghaffaria, H.; Tadayona, M.R.; Bahadora, M.; Razmjoo, J. (2021). Investigation of the proline role in controlling traits related to sugar and root yield of sugar beet under water deficit conditions. *Agric. Water Manag.* 243, 106448.
- Ghosh, U. K., Islam, M. N., Siddiqui, M. N., Cao, X., & Khan, M. A. R. (2022). Proline, a multifaceted signalling molecule in plant responses to abiotic stress: understanding the physiological mechanisms. *Plant Biology*, 24(2), 227-239.
- Giorio, P., Guida, G., Mistretta, C., Sellami, M. H., Oliva, M., Punzo, P., ... & Albrizio, R. (2018). Physiological, biochemical and molecular responses to water stress and rehydration in Mediterranean adapted tomato landraces. *Plant Biology*, 20(6), 995-1004.
- Gontia-Mishra, I., Sapre, S., Sharma, A., & Tiwari, S. (2016). Amelioration of drought tolerance in wheat by the interaction of plant growth-promoting rhizobacteria. *Plant Biology*, 18(6), 992-1000.
- Guendouz, A, Guessoum, S; Maamri, K; Benidir, M. and Hafsi, M.(2003). Performance of ten durum wheat (*triticum durum* desf.) cultivars under semi arid conditions (North Africa -Algeria-). *Indian J. Agricultural Research Communication Centre*.47 (4),317 – 322 p.
- Gunasekera, D., & Ratnasekera, D. (2023). Advancement in mitigating the effects of drought stress in wheat. In *Abiotic Stresses in Wheat* (pp. 297-311). Academic Press.
- Guo, S., Ma, X., Cai, W., Wang, Y., Gao, X., Fu, B., & Li, S. (2022). Exogenous Proline Improves Salt Tolerance of Alfalfa through Modulation of Antioxidant Capacity, Ion Homeostasis, and Proline Metabolism. *Plants*, 11(21), 2994.
- Habash, D.Z., Baudo, M., Hindle, M., Powers, S.J., Defoin-Platel, M., Mitchell, R., Saqi, M., Rawlings, C., Latiri, K., Araus, J. L., Abdulkader A., Tuberosa, R., Lawlor, D. W., Nachit, M.M., (2014). Systems responses to progressive water stress in durum wheat. *PLoS One*, 9(9): e108431.

## Références bibliographiques

- Haddad, L., (2009). Contribution à l'étude de la stabilité des rendements du blé dur (*Triticum durum* Desf.) sous climat méditerranéen. Mémoire de Magister, Département Agronomie, Faculté des Sciences, UFAS, 70.pp.
- Hanif, S., Saleem, M. F., Sarwar, M., Irshad, M., Shakoor, A., Wahid, M. A., & Khan, H. Z. (2021). Biochemically triggered heat and drought stress tolerance in rice by proline application. *Journal of Plant Growth Regulation*, 40, 305-312.
- Hannachi, A., Fellahi, Z., Rabti, A., Guendouz, A., & Bouzerzour, H. (2017). Combining ability and gene action estimates for some yield attributes in durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. durum). *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 9(3), 1519-1534.
- Hayat, K., Khan, J., Khan, A., Ullah, S., Ali, S., & Fu, Y. (2021). Ameliorative effects of exogenous Proline on photosynthetic attributes, nutrients uptake, and oxidative stresses under cadmium in Pigeon pea (*Cajanus Cajan L.*). *Plants*, 10(4):796.
- Hayat, S., Hayat, Q., Alyemeni, M. N., Wani, A. S., Pichtel, J., & Ahmad, A. (2012). Role of proline under changing environments: a review. *Plant signaling & behavior*, 7(11), 1456-1466.
- Heath, R. L., & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of biochemistry and biophysics*, 125(1), 189- 198.
- Holloway p.j., et jeffree ce. (2017).Epicuticular Waxes, In *Encyclopedia of Applied Plant Sciences* (Second Edition), edited by Brian Thomas, Brian G Murray and Denis J Murphy, Academic Press, Oxford, Pages 374-386
- Hopkins W. G. (2003). *Physiologie Végétale*, traduction de la 2ème édition américaine. Edition De Boek, pp.454-455. 514p
- Hosseinfard, M., Stefaniak, S., Ghorbani Javid, M., Soltani, E., Wojtyla, Ł., & Garneczarska, M. (2022). Contribution of exogenous proline to abiotic stresses tolerance in plants: a review. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(9), 5186.
- Huang W.Y., Cai Y.Z., Hyde K.D., Corke H. and Sun M. (2008). Biodiversity of endophytic fungi with 29 traditional Chinese medicinal plants. *Fungal Diversity* 33: 61-75
- Hussain, S.; Khalid, M.F.; Saqib, M.; Ahmad, S.; Zafar, W.; Rao, M.J.; Morillon, R.; Anjum, M.A. (2018). Drought Tolerance in Citrus Rootstocks Is Associated with Better Antioxidant Defense Mechanism. *Acta Physiol. Plant*, 40, 135.
- Ingram, J., & Bartels, D. (1996). The molecular basis of dehydration tolerance in plants. *Annual review of plant biology*, 47(1), 377-403.
- Jallouli, S., Ayadi, S., Landi, S., Capasso, G., Santini, G., Chamekh, Z., ... & Esposito, S. (2019). Physiological and molecular osmotic stress responses in three durum wheat (*Triticum Turgidum* ssp durum) genotypes. *Agronomy*, 9(9), 550.
- Jamshidi Goharrizi, K., Baghizadeh, A., Karami, S., Nazari, M., & Afroushteh, M. (2022). Expression of the W36, P5CS, P5CR, MAPK3, and MAPK6 genes and proline content in bread wheat genotypes under drought stress. *Cereal Research Communications*, 1-12.
- Joshi, R., Wani, S.H., Singh, B., Bohra, A., Dar, Z.A., Lone, A.A. et al. (2016). Transcription factors and plants response to drought stress: Current understanding and future directions. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1029

## Références bibliographiques

- Kalaji, H.M.; Jajoo, A.; Oukarroum, A.; Brestic, M.; Zivcak, M.; Samborska, I.A.; Cetner, M.D.; Łukasik, I.; Goltsev, V.; Ladle, R.J. (2016). Chlorophyll a fluorescence as a tool to monitor physiological status of plants under abiotic stress conditions. *Acta Physiol. Plant*, 38, 10
- Kapoor, D.; Bhardwaj, S.; Landi, M.; Sharma, A.; Ramakrishnan, M.; Sharma, A. (2020). The Impact of Drought in Plant Metabolism: How to Exploit Tolerance Mechanisms to Increase Crop Production. *Appl. Sci*, 10, 5692
- Kaur, D., Grewal, S. K., Kaur, J., & Singh, S. (2017). Differential proline metabolism in vegetative and reproductive tissues determine drought tolerance in chickpea. *Biologia plantarum*, 61, 359-366.
- Kavi Kishor, P.B., Hima Kumari, P., Sunita, M., Sreenivasulu, N. (2015). Role of proline in cell wall synthesis and plant development and its implications in plant ontogeny. *Frontier. Plant Science*, 544 (6):1-17.
- Kaya, C., Tuna, A. L., Ashraf, M., & Altunlu, H. (2007). Improved salt tolerance of melon (*Cucumis melo* L.) by the addition of proline and potassium nitrate. *Environmental and Experimental Botany*, 60(3), 397-403.
- Khaeim, H., Kende, Z., Balla, I., Gyuricza, C., Eser, A., & Tarnawa, Á. (2022). The Effect of Temperature and Water Stresses on Seed Germination and Seedling Growth of Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Sustainability*, 14(7), 3887.
- Khajeeyan, R., Salehi, A., Dehnavi, M. M., Farajee, H., & Kohanmoo, M. A. (2019). Physiological and yield responses of Aloe vera plant to biofertilizers under different irrigation regimes. *Agricultural Water Management*, 225, 105768.
- Kichey, T.; Heumez, E.; Pocholle, D.; Pageau, K.; Vanacker, H.; Dubois, F.; Le Gouis, J.; Hirel, B. Combined. (2006). agronomic and physiological aspects of nitrogen management in wheat highlight a central role for glutamine synthetase. *N. Phytol*, 169, 265–278.
- Kirby EJM, Appleyard M, and Fellows G. (1982). Effects of sowing date and varieties on main shoot leaf emergence and number of leaves of barley plant. *Agronomie*, 5: 117- 126.
- Kumar, S., Islam, A. R. M. T., Islam, H. T., Hasanuzzaman, M., Ongoma, V., Khan, R., & Mallick, J. (2021). Water resources pollution associated with risks of heavy metals from Vatukoula Goldmine region, Fiji. *Journal of environmental management*, 293, 112868.
- Kumari, A., Jewaria, P. K., Bergmann, D. C., & Kakimoto, T. (2014). Arabidopsis reduces growth under osmotic stress by decreasing SPEECHLESS protein. *Plant and Cell Physiology*, 55(12), 2037-2046.
- Kusano, M., Tabuchi, M., Fukushima, A., Funayama, K., Diaz, C., Kobayashi, M., & Saito, K. (2011). Metabolomics data reveal a crucial role of cytosolic glutamine synthetase 1; 1 in coordinating metabolic balance in rice. *The Plant Journal*, 66(3), 456-466..
- Laala, A., Rached-Kanouni, M., & Alatou, D. (2013). Les variations thermiques saisonniers et leurs impacts sur le comportement écophysiologicals des semis de pin d'Alep. *European Scientific Journal*, 9(24).
- Laxa, M., Liebthal, M., Telman, W., Chibani, K., & Dietz, K. J. (2019). The role of the plant antioxidant system in drought tolerance. *Antioxidants*, 8(4), 94.
- Lev-Yadun, S., Gopher, A., & Abbo, S. (2000). The cradle of agriculture. *Science*, 288(5471), 1602-1603.
- Levitt, J. (1980). Responses of plants to environmental stresses. I-Chilling, freezing and high temperature. Academic Press., New York, USA, 607p

## Références bibliographiques

- Li, S., Liu, J., Liu, H., Qiu, R., Gao, Y., & Duan, A. (2021). Role of hydraulic signal and ABA in decrease of leaf stomatal and mesophyll conductance in Soil Drought-Stressed Tomato. *Frontiers in plant science*, 12, 653186.
- Liang, X., Zhang, L., Natarajan, S. K., & Becker, D. F. (2013). Proline mechanisms of stress survival. *Antioxidants & redox signaling*, 19(9), 998-1011.
- Lichtenthaler, H. K., & Wellburn, A. R. (1983). Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents.
- Liu, C., Liu, Y., Guo, K., Fan, D., Li, G., Zheng, Y., Yang, R. (2011). Effect of drought on pigments, osmotic adjustment and antioxidant enzymes in six woody plant species in karst habitats of southwestern China. *Environmental and Experimental Botany*, 71(2), 174-183.
- Maghsoudi, K., Emam, Y., Niazi, A., Pessarakli, M., & Arvin, M. J. (2018). P5CS expression level and proline accumulation in the sensitive and tolerant wheat cultivars under control and drought stress conditions in the presence/absence of silicon and salicylic acid. *Journal of Plant Interactions*, 13(1), 461-471.
- Mansouri, A., Oudjehih, B., Benbelkacem, A., Fellahi, Z. E. A., & Bouzerzour, H. (2018). Variation and relationships among agronomic traits in durum wheat [*Triticum turgidum* (L.) Thell. Ssp. *Turgidum* conv. *Durum* (Desf.) Mackey] under south Mediterranean growth conditions: Stepwise and path analyses. *International Journal of Agronomy*, 2018.
- Marcotuli, I., Colasuonno, P., Hsieh, Y. S., Fincher, G. B., & Gadaleta, A. (2020). Non-starch polysaccharides in durum wheat: a review. *International journal of molecular sciences*, 21(8), 2933
- Mattioli, R., Costantino, P., & Trovato, M. (2009). Proline accumulation in plants: not only stress. *Plant signaling & behavior*, 4(11), 1016-1018.
- Maydup, M. L., Antonietta, M., Guiamet, J. J., Graciano, C., López, J. R., & Tambussi, E. A. (2010). The contribution of ear photosynthesis to grain filling in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Field crops research*, 119(1), 48-58.
- Meena, M., Divyanshu, K., Kumar, S., Swapnil, P., Zehra, A., Shukla, V & Upadhyay, R. S. (2019). Regulation of L-proline biosynthesis, signal transduction, transport, accumulation and its vital role in plants during variable environmental conditions. *Heliyon*, 5(12), e02952.
- Meena, S., Mittal, G. K., Shivran, A. C., Singh, D., Niyariya, R., Gupta, N. K., & Saxena, S. N. (2016). Water stress induced biochemical changes in fenugreek (*Trigonella foenum graecum* L.) genotypes. *Inter. J. Seed Spices*, 6, 61-70.
- Mekhlouf, A., Dehbi, F., Hannachi, A., Harbi, M. (2012). Réponses du blé dur (*Triticum durum*, Desf.) aux basses températures en relations avec la capacité de production. *Revue Agriculture* N°3, 13-22p.
- Mekhlouf, A., Bouzerzour, H., Benmahammed, A., Sahraoui, A. H., & Harkati, N. (2006). Adaptation des variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.) au climat semi-aride. *Science et changements planétaires/Sécheresse*, 17(4), 507-513.
- Melloul, M., Iraqi, D., Udupa, S. M., Erba, G., El Alaoui, M. A., Ibriz, M., & El Fahime, E. (2014). Analysis of mRNA Levels of Ten Genes Under Water Stress in *Triticum turgidum* subsp. *durum*. *Journal of Plant Studies*, 3(1), p65.
- Momeni, M. M., Kalantar, M., & Dehghani-Zahedani, M. (2021). Physiological, biochemical and molecular responses of durum wheat under salt stress. *Plant Genetic Resources*, 19(2), 93-103



## Références bibliographiques

- Mondal, R., Kumar, A., & Chattopadhyay, S. K. (2021). Structural property, molecular regulation, and functional diversity of glutamine synthetase in higher plants: a data-mining bioinformatics approach. *The Plant Journal*, 108(6), 1565-1584.
- Monneveux, P., & Nemmar, M. (1986). Contribution à l'étude de la résistance à la sécheresse chez le blé tendre (*Triticum aestivum* L.) et chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.): étude de l'accumulation de la proline au cours du cycle de développement. *Agronomie*, 6(6), 583-590.
- Moragues M., Zarco-Hernández J., Moralejo M.A., Royo C. (2006). Genetic diversity of glutenin protein subunits composition in durum wheat landraces [*Triticum turgidum* ssp. *turgidum* convar. *durum* (Desf.) MacKey] from the Mediterranean basin. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 53, 993-1002.
- Mosa, K. A., Ismail, A., Helmy, M., Mosa, K. A., Ismail, A., & Helmy, M. (2017). Introduction to plant stresses. *Plant Stress Tolerance: An Integrated Omics Approach*, 1-19.
- Moustakas, M., Sperdoui, I., Kouna, T., Antonopoulou, C. I., & Therios, I. (2011). Exogenous proline induces soluble sugar accumulation and alleviates drought stress effects on photosystem II functioning of *Arabidopsis thaliana* leaves. *Plant Growth Regulation*, 65, 315-325.
- Nagy, Z., Németh, E., Guóth, A., Bona, L., Wodala, B., & Pécsváradi, A. (2013). Metabolic indicators of drought stress tolerance in wheat: Glutamine synthetase isoenzymes and Rubisco. *Plant Physiology and Biochemistry*, 67, 48-54.
- Nasirzadeh, L., Sorkhilaleloo, B., Majidi Hervan, E., & Fatehi, F. (2021). Changes in antioxidant enzyme activities and gene expression profiles under drought stress in tolerant, intermediate, and susceptible wheat genotypes. *Cereal Research Communications*, 49, 83-89.
- Nasrin, S., Saha, S., Begum, H. H., & Samad, R. (2020). Impacts of drought stress on growth, protein, proline, pigment content and antioxidant enzyme activities in rice (*Oryza sativa* L. var. BRRI dhan-24). *Dhaka university journal of Biological Sciences*, 29(1), 117-123.
- Nayyar, H., & Gupta, D. (2006). Differential sensitivity of C3 and C4 plants to water deficit stress: association with oxidative stress and antioxidants. *Environmental and Experimental Botany*, 58(1-3), 106-113.
- Naz, S., & Perveen, S. (2021). Response of wheat (*Triticum aestivum* L. var. galaxy-2013) to pre-sowing seed treatment with thiourea under drought stress. *Pak. J. Bot*, 53(4), 1209-1217.
- Nezhadahmadi, A., Prodhan, Z. H., & Faruq, G. (2013). Drought tolerance in wheat. *The Scientific World Journal*.
- Noreen, S., Akhter, M. S., Yaamin, T., & Arfan, M. (2018). The ameliorative effects of exogenously applied proline on physiological and biochemical parameters of wheat (*Triticum aestivum* L.) crop under copper stress condition. *Journal of Plant Interactions*, 13(1), 221-230.
- Nouar H. (2015). Contribution à l'étude de l'interaction génotype- environnements du blé dur (*Triticum durum* Desf.) sous climat méditerranéen : application des modèles de la régression conjointe et AMMI. Thèse de doctorat des sciences Option : Production végétale. Département des Sciences Agronomiques, Faculté SNV, Université Sétif-1.130 pages
- Oaks, A., & Hirel, B. (1985). Nitrogen metabolism in roots. *Annual Review of Plant Physiology*, 36(1), 345-365.
- Okumoto S, Funck D, Trovato M, Forlani G. (2016). Editorial: Amino Acids of the Glutamate Family: Functions beyond Primary Metabolism. *Front Plant Sci* 21;7:318

## Références bibliographiques

- Oliveira, I. C., Brears, T., Knight, T. J., Clark, A., & Coruzzi, G. M. (2002). Overexpression of cytosolic glutamine synthetase. Relation to nitrogen, light, and photorespiration. *Plant Physiology*, *129*(3), 1170-1180.
- Olsovská, K., Kovar, M., Brestic, M., Zivcak, M., Slamka, P., & Shao, H. B. (2016). Genotypically identifying wheat mesophyll conductance regulation under progressive drought stress. *Frontiers in Plant Science*, *7*, 1111.
- O'Neal D., Joy K.W. (1973). Glutamine synthetase of pea leaves. I. Purification, stabilization, and pH optima. *Archives of Biochemistry and Biophysics* *159*: 113-122.
- Oneto, C. D., Otegui, M. E., Baroli, I., Beznec, A., Faccio, P., Bossio, E., ... & Lewi, D. (2016). Water deficit stress tolerance in maize conferred by expression of an isopentenyltransferase (IPT) gene driven by a stress-and maturation-induced promoter. *Journal of biotechnology*, *220*, 66-77.
- Orsel, M., Moison, M., Clouet, V., Thomas, J., Leprince, F., Canoy, A. S., ... & Masclaux-Daubresse, C. (2014). Sixteen cytosolic glutamine synthetase genes identified in the *Brassica napus* L. genome are differentially regulated depending on nitrogen regimes and leaf senescence. *Journal of Experimental Botany*, *65*(14), 3927-3947.
- Ostrowska, A., & Hura, T. (2022). Physiological Comparison of Wheat and Maize Seedlings Responses to Water Stresses. *Sustainability*, *14*(13), 7932.
- Ozkur, O., F. Ozdemir, M. Bor et I. Turkan. (2009). Physiochemical and antioxidant responses of the perennial xerophyte *Capparis ovata* Desf. to drought. *Environ. Exp. Bot.* *66* : 487-492.
- Ozturk, M., Turkyilmaz Unal, B., García-Caparrós, P., Khursheed, A., Gul, A., & Hasanuzzaman, M. (2021). Osmoregulation and its actions during the drought stress in plants. *Physiologia plantarum*, *172*(2), 1321-1335.
- Pang, X.B., X.G. Mao, R.L. Jing, J.F. Shi, T. Gao, X.P. Chang, Y.F. Li. 2007. Analysis of gene expression profile response to water stress in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedling. *Acta Agronomica Sinica*, *33*: 333– 336.
- Parwata, I. G. M. A., Indradewa, D., Yudono, P., Kertonegoro, B. D., & Kusmarwiyah, R. (2013). Physiological responses of *Jatropha* to drought stress in coastal sandy land conditions. *Makara Journal of Science*, 115-121.
- Passioura, J. (2006). Increasing crop productivity when water is scarce—from breeding to field management. *Agricultural water management*, *80*(1-3), 176-1a96.
- Peng, L. X., Gu, L. K., Zheng, C. C., Li, D. Q. & Shu, H. R. (2006). Expression of MaMAPK gene in seedlings of *Malus* L. under water stress. *Acta biochimica et biophysica Sinica*, *38*(4), 281-286.
- Pilon, C., Snider, J. L., Sobolev, V., Chastain, D. R., Sorensen, R. B., Meeks, C. D., ... & Earl, H. J. (2018). Assessing stomatal and non-stomatal limitations to carbon assimilation under progressive drought in peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Journal of plant physiology*, *231*, 124-134.
- Pratelli, R., & Pilot, G. (2014). Regulation of amino acid metabolic enzymes and transporters in plants. *Journal of Experimental Botany*, *65*(19), 5535-5556.
- 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 & environment*, *29*(12), 2143-2152.

## Références bibliographiques

- Rasheed, R., Ashraf, M. A., Hussain, I., Haider, M. Z., Kanwal, U., & Iqbal, M. (2014). Exogenous proline and glycinebetaine mitigate cadmium stress in two genetically different spring wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Brazilian Journal of Botany*, 37, 399-406.
- Raza, A., Charagh, S., Abbas, S., Hassan, M. U., Saeed, F., Haider, S. & Varshney, R. K. (2023). Assessment of proline function in higher plants under extreme temperatures. *Plant Biology*, 25(3), 379-395.
- Reboloso-Fuentes, M. M., Navarro-Pérez, A., García-Camacho, F., Ramos-Miras, J. J., & Guill-Guerrero, J. L. (2001). Biomass nutrient profiles of the microalga *Nannochloropsis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(6), 2966-2972.
- Rejeb, K. B., Abdelly, C., & Savouré, A. (2012). La proline, un acide aminé multifonctionnel impliqué dans l'adaptation des plantes aux contraintes environnementales. *Biologie aujourd'hui*, 206(4), 291-299.
- Richards, D. G., Prangnell, P. B., Withers, P. J., Williams, S. W., Nagy, T., & Morgan, S. (2010). Efficacy of active cooling for controlling residual stresses in friction stir welds. *Science and Technology of Welding and Joining*, 15(2), 156-165.
- Rios, C. O., Siqueira-Silva, A. I., & Pereira, E. G. (2021). How does drought affect native grasses' photosynthesis on the revegetation of iron ore tailings?. *Environmental Science and Pollution Research*, 28, 14797-14811.
- Royo, C., Nazco, R. and Villegas, D. (2014). The climate of the zone of Mediterranean durum wheat (*Triticum durum* Desf.) landraces affects their agronomic performance. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 61: 1345-1358.
- Sadeghipour, O. (2020). Cadmium toxicity alleviates by seed priming with proline or glycine betaine in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). *Egyptian Journal of Agronomy*, 42(2), 163-170.
- Sakamura (1918). L'origine des blés. In: Gallais A, Bannerot H eds (1992). Amélioration des espèces végétales cultivées. INRA Editions : 13-7 1.p23.
- Salehi-Lisar, S. Y., & Bakhshayeshan-Agdam, H. (2016). Drought stress in plants: causes, consequences, and tolerance. *Drought Stress Tolerance in Plants, Vol 1: Physiology and Biochemistry*, 1-16.
- Sall AT, Chiari T, Legesse W, Ahmed S, Ortiz R, Van Ginkel M, and Bassi FM.( 2019). Durum Wheat ( *Triticum Durum* Desf.) Origin , Cultivation , and Potential Expansion in Sub-Saharan Africa. *Agronomy*, 9: 263.
- Sallam, A.; Alqudah, A.M.; Dawood, M.F.; Baenziger, P.S.; Börner, A. (2019). Drought Stress Tolerance in Wheat and Barley: Advances in Physiology, Breeding and Genetics Research. *Int. J. Mol. Sci.* 20, 3137
- Schultz, W. (1913). Rätsel aus dem hellenischen Kulturkreise (Vol. 3, No. 1). JC Hinrichs.
- Semida, W. M., Abdelkhalik, A., Rady, M. O., Marey, R. A., & Abd El-Mageed, T. A. (2020). Exogenously applied proline enhances growth and productivity of drought stressed onion by improving photosynthetic efficiency, water use efficiency and up-regulating osmoprotectants. *Scientia Horticulturae*, 272, 109580.
- Servet, C., Ghelis, T., Richard, L., Zilberstein, A., & Savoure, A. (2012). Proline dehydrogenase: a key enzyme in controlling cellular homeostasis. *Front Biosci*, 17(1), 607-620.
- Shahid, M. A., Balal, R. M., Pervez, M. A., Abbas, T., Aqeel, M. A., JAVAID, M., & Garcia-Sanchez, F. (2014). Exogenous proline and proline-enriched *Lolium perenne* leaf extract protects against

## Références bibliographiques

- phytotoxic effects of nickel and salinity in *Pisum sativum* by altering polyamine metabolism in leaves. *Turkish Journal of Botany*, 38(5), 914-926.
- Shahzad, K. H. U. R. A. M., Ali, A. A. M. I. R., Ghani, A. B. D. U. L., Nadeem, M. U. H. A. M. M. A. D., Khalid, T. E. H. S. E. E. N., Nawaz, S. A. R. F. R. A. Z., ... & Anwar, T. A. U. S. E. E. F. (2023). Exogenous application of proline and glycine betaine mitigates nickel toxicity in mung bean plants by up-regulating growth, physiological and yield attributes. *Pak. J. Bot.*, 55, 1536.
- Shinozaki, K., & Yamaguchi-Shinozaki, K. (2007). Gene networks involved in drought stress response and tolerance. *Journal of experimental botany*, 58(2), 221-227
- Singh, K. K., & Ghosh, S. (2013). Regulation of glutamine synthetase isoforms in two differentially drought-tolerant rice (*Oryza sativa* L.) cultivars under water deficit conditions. *Plant Cell Reports*, 32, 183-193.
- Singh HP, Batish DR, Kaur G, Arora K, Kohli RK. (2008). Nitric oxide (as sodium nitroprusside) supplementation ameliorates Cd toxicity in hydroponically grown wheat roots. *Environmental and Experimental Botany* 63: 158–167.
- Siripornadulsil, S., Traina, S., Verma, D. P. S., & Sayre, R. T. (2002). Molecular mechanisms of proline-mediated tolerance to toxic heavy metals in transgenic microalgae. *The Plant Cell*, 14(11), 2837-2847.
- Slama, A., Salem, M. B., & Zid, E. (2005). Les céréales en Tunisie: production, effet de la sécheresse et mécanismes de résistance. *Science et changements planétaires/Sécheresse*, 16(3), 225-229.
- Soares, J.C.; Santos, C.S.; Carvalho, S.M.P.; Pintado, M.M.; Vasconcelos, M.W. Preserving .(2019).the Nutritional Quality of Crop Plants under a Changing Climate: Importance and Strategies. *Plant Soil*, 443, 1–26.
- Sperdoui, I., & Moustakas, M. (2012). Interaction of proline, sugars, and anthocyanins during photosynthetic acclimation of *Arabidopsis thaliana* to drought stress. *Journal of plant physiology*, 169(6), 577-585.
- Sun, Y., Wang, C., Chen, H. Y., & Ruan, H. (2020). Response of plants to water stress: a meta-analysis. *Frontiers in plant science*, 11, 978.
- Szabados, L., & Saviouré, A. (2010). Proline: a multifunctional amino acid. *Trends in plant science*, 15(2), 89-97
- Szekely G., Abraham E., Cselo A., Rigo G., Zsigmond L., Csiszar J., Ayaydin F., Strizhov N., Jasik J., Schmelzer E., Koncz C., Szabados L. (2008). Duplicated P5CS genes of *Arabidopsis* play distinct roles in stress regulation and developmental control of proline biosynthesis. *Plant J*, 53, 11–28.
- Szepesi, Á., & Szöllösi, R. (2018). Mechanism of proline biosynthesis and role of proline metabolism enzymes under environmental stress in plants. In *Plant metabolites and regulation under environmental stress* (pp. 337-353). Academic Press.
- Taie, H. A. A., Abdelhamid, M. T., Dawood, M. G., & Nassar, R. M. A. (2013). Pre-sowing seed treatment with proline improves some physiological, biochemical and anatomical attributes of faba bean plants under sea water stress. *Journal of Applied Sciences Research*, 9(4), 2853-2867.
- Tardieu F. (2012). Any trait or trait-related allele can confer drought tolerance: just design the right drought scenario. *Journal of Experimental Botany* 63: 25–31.
- Tardieu, F., Cruziat, P., Durand, J. L., Triboï, E., & Zivy, M. (2006). Perception de la sécheresse par la plante, conséquences sur la productivité et sur la qualité des produits récoltés. *Sécheresse et agriculture*, Ed., Unité ESCo. INRA, Paris, 49-67.

## Références bibliographiques

- Tripathi, B.N.; Gaur, J.P. (2004). Relationship between copper-and zinc-induced oxidative stress and proline accumulation in *Scenedesmus* sp. *Planta*, 219, 397–404
- Trovato, M., Forlani, G., Signorelli, S., and Funck, D. (2019). “Proline metabolism and its functions in development and stress tolerance,” in *Osmoprotectant- Mediated Abiotic Stress Tolerance in Plants: Recent Advances and Future Perspectives*, eds
- Turner, N. C. (2004). Sustainable production of crops and pastures under drought in a Mediterranean environment. *Annals of Applied Biology*, 144(2), 139-147.
- Valentovic, P., Luxova, M., Kolarovic, L., & Gasparikova, O. (2016). Effect of osmotic stress on compatible solutes content, membrane stability and water relations in two maize cultivars. *Plant Soil and Environment*, 52(4), 184.
- Vinocur, B., & Altman, A. (2005). Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: achievements and limitations. *Current opinion in biotechnology*, 16(2), 123-132.
- Virloouvet, L. (2011). *Identification et caractérisation de gènes impliqués dans la variation de caractères quantitatifs affectés par la sécheresse chez le maïs* (Doctoral dissertation, Université Paris Sud-Paris XI). 1-14.
- Verslues, P. E., Agarwal, M., Katiyar-Agarwal, S., Zhu, J., & Zhu, J. K. (2006). Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. *The Plant Journal*, 45(4), 523-539.
- Wahab, A., Abdi, G., Saleem, M. H., Ali, B., Ullah, S., Shah, W. & Marc, R. A. (2022). Plants’ physio-biochemical and phyto-hormonal responses to alleviate the adverse effects of drought stress: A comprehensive review. *Plants*, 11(13), 1620.
- Wang W, Vinocur B, Altman A. (2003). Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta* 218: 1–14.
- Wang, T., Du, Y. L., He, J., Turner, N. C., Wang, B. R., Zhang, C., ... & Li, F. M. (2017). Recently-released genotypes of naked oat (*Avena nuda* L.) out-yield early releases under water-limited conditions by greater reproductive allocation and desiccation tolerance. *Field Crops Research*, 204, 169-179.
- Wang, X., Mao, Z., Zhang, J., Hemat, M., Huang, M., Cai, J. & Jiang, D. (2019). Osmolyte accumulation plays important roles in the drought priming induced tolerance to post-anthesis drought stress in winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *Environmental and Experimental Botany*, 166, 103804.
- Witcombe, J. R., Hollington, P. A., Howarth, C. J., Reader, S., & Steele, K. A. (2008). Breeding for abiotic stresses for sustainable agriculture. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 363(1492), 703-716.
- Yan L, Shi Y. (2013). Effect of drought stress on growth and development in winter wheat with aquasorb-fertilizer. *J Food Sci Technol* 5: 1502–1504.
- Yao, J., Ren, L., Zhang, P., Yang, X., Hongxiang, M., Yao, G., Zhang, P., Zhou, M. (2011). Genetic and correlation analysis of plant height and its components in wheat. *J. Triticeae Crops* 31 (4), 604–610
- Yasir, T.A.; Min, D.; Chen, X.; Condon, A.G.; Hu, Y.G. (2013). The association of carbon isotope discrimination (D) with gas exchange parameters and yield traits in Chinese bread wheat cultivars under two water regimes. *Agric. Water Manag*, 119, 111–120.
- Yin, H., Yang, F., He, X., Du, X., Mu, P., & Ma, W. (2022). Advances in the functional study of glutamine synthetase in plant abiotic stress tolerance response. *The Crop Journal*.

## Références bibliographiques

- Ykhlef, N., & Djekoun, A. (2000). Adaptation photosynthétique et résistance à la sécheresse chez le blé dur (*Triticum turgidum* L. var. durum): Analyse de la variabilité génotypique. *Option Méditerranéennes (Séried A)*, 40, 327-330.
- Yordanov, I., Velikova, V., & Tsonev, T. (2003). Plant responses to drought and stress tolerance. Bulgharestan. *Journal of Plant Physiology*, 2, 187-206.
- Yu, H., Zhang, Y., Zhang, Z., Zhang, J., Wei, Y., Jia, X., ... & Ma, X. (2020). Towards identification of molecular mechanism in which the overexpression of wheat cytosolic and plastid glutamine synthetases in tobacco enhanced drought tolerance. *Plant physiology and biochemistry*, 151, 608-620.
- Zali, A. G., & Ehsanzadeh, P. (2018). Exogenous proline improves osmoregulation, physiological functions, essential oil, and seed yield of fennel. *Industrial Crops and Products*, 111, 133-140.
- Zhang, S. Z., Penner, G. B., Yang, W. Z., & Oba, M. (2010). Effects of partially replacing barley silage or barley grain with dried distillers grains with solubles on rumen fermentation and milk production of lactating dairy cows. *Journal of dairy science*, 93(7), 3231-3242.
- Zhao, W., Liu, L., Shen, Q., Yang, J., Han, X., Tian, F., Wu, J. (2020). Effects of Water Stress on Photosynthesis, Yield, and Water Use Efficiency in Winter Wheat. *Water*, 12, 2127.
- Zlotowicz, A., Strand, R. V., Burheim, O. S., Wilhelmsen, Ø., & Kjelstrup, S. (2017). The permselectivity and water transference number of ion exchange membranes in reverse electrodialysis. *Journal of Membrane Science*, 523, 402-408.
- Zuo, S., Li, J., Gu, W., & Wei, S. (2022). Exogenous proline alleviated low temperature stress in maize embryos by optimizing seed germination, inner proline metabolism, respiratory metabolism and a hormone regulation mechanism. *Agriculture*, 12(4), 548.

# *Annexes*

## Annexe

### Annexe 01

**Tableau 01:** Résultat de l'ANOVA a deux facteurs (variété et campagne) pour la variable hauteur de la plante (HP).

#### Tests des effets intersujets

Source	Somme des carrés de type III	ddl	Carré moyen	F	Signification
Modèle corrigé	13987.813 <sup>a</sup>	19	736.201	16.420	.000
Constante	602071.025	1	602071.025	13428.666	.000
VARIETE	13444.866	9	1493.874	33.320	.000
ANNEE	519.435	1	519.435	11.586	.001
VARIETE * ANNEE	23.512	9	2.612	.058	1.000
Erreur	2690.086	60	44.835		
Total	618748.924	80			
Total corrigé	16677.899	79			

a. R-deux = .839 (R-deux ajusté = .788)

**Tableau 02:** Résultat de l'ANOVA a deux facteurs (variété et campagne) pour la variable Nombre Epi par m<sup>2</sup> (Nbr E/m<sup>2</sup>).

#### Tests des effets intersujets

Source	Somme des carrés de type III	ddl	Carré moyen	F	Signification
Modèle corrigé	9095.377 <sup>a</sup>	19	478.704	9.803	.000
Constante	574983.047	1	574983.047	11775.100	.000
VARIETE	7380.382	9	820.042	16.794	.000
ANNEE	1395.870	1	1395.870	28.586	.000
VARIETE * ANNEE	319.125	9	35.458	.726	.683
Erreur	2929.825	60	48.830		
Total	587008.249	80			
Total corrigé	12025.202	79			

a. R-deux = .756 (R-deux ajusté = .679)



## Annexe

**Tableau 03:** Résultat de l'ANOVA a deux facteurs (variété et campagne) pour la variable Nombre grain par Epi (Nbr G/E).

### Tests des effets intersujets

Source	Somme des carrés de type III	ddl	Carré moyen	F	Signification
Modèle corrigé	1530.742 <sup>a</sup>	19	80.565	20.328	.000
Constante	155992.551	1	155992.551	39359.069	.000
VARIETE	1399.242	9	155.471	39.228	.000
ANNEE	125.000	1	125.000	31.539	.000
VARIETE * ANNEE	6.500	9	.722	.182	.995
Erreur	237.799	60	3.963		
Total	157761.092	80			
Total corrigé	1768.541	79			

a. R-deux = .866 (R-deux ajusté = .823)

**Tableau 04:** Résultat de l'ANOVA a deux facteurs (variété et campagne) pour la variable Poids de 1000 grains (PMG).

### Tests des effets intersujets

Source	Somme des carrés de type III	ddl	Carré moyen	F	Signification
Modèle corrigé	407.085 <sup>a</sup>	19	21.426	8.069	.000
Constante	172388.097	1	172388.097	64919.935	.000
VARIETE	294.355	9	32.706	12.317	.000
ANNEE	109.770	1	109.770	41.338	.000
VARIETE * ANNEE	2.961	9	.329	.124	.999
Erreur	159.324	60	2.655		
Total	172954.506	80			
Total corrigé	566.409	79			

a. R-deux = .719 (R-deux ajusté = .630)

## Annexe

**Tableau 05:** Résultat de l'ANOVA a deux facteurs (variété et campagne) pour la variable Rendement en grain (Rdt).

### Tests des effets intersujets

Source	Somme des carrés de type III	ddl	Carré moyen	F	Signification
Modèle corrigé	4669.092 <sup>a</sup>	19	245.742	3.826	.000
Constante	121406.374	1	121406.374	1890.337	.000
VARIETE	4344.157	9	482.684	7.516	.000
ANNEE	287.244	1	287.244	4.472	.039
VARIETE * ANNEE	37.692	9	4.188	.065	1.000
Erreur	3853.484	60	64.225		
Total	129928.950	80			
Total corrigé	8522.576	79			

a. R-deux = .548 (R-deux ajusté = .405)

**Tableau 06:** Résultat de l'ANOVA a deux facteurs (variété et campagne) pour la variable Teneur relative en eau (TRE).

### Tests des effets intersujets

Source	Somme des carrés de type III	ddl	Carré moyen	F	Signification
Modèle corrigé	2995.261 <sup>a</sup>	19	157.645	17.446	.000
Constante	516443.198	1	516443.198	57154.270	.000
VARIETE	2666.852	9	296.317	32.793	.000
ANNEE	310.118	1	310.118	34.320	.000
VARIETE * ANNEE	18.291	9	2.032	.225	.990
Erreur	542.157	60	9.036		
Total	519980.616	80			
Total corrigé	3537.418	79			

a. R-deux = .847 (R-deux ajusté = .798)

## Annexe

**Tableau 07:** Résultat de l'ANOVA a deux facteurs (variété et campagne) pour la variable Teneur en chlorophylle.

<b>Tests des effets intersujets</b>					
Source	Somme des carrés de type III	ddl	Carré moyen	F	Signification
Modèle corrigé	3285.416 <sup>a</sup>	19	172.917	6.166	.000
Constante	241769.055	1	241769.055	8620.608	.000
VARIETE	2877.302	9	319.700	11.399	.000
ANNEE	365.342	1	365.342	13.027	.001
VARIETE * ANNEE	42.772	9	4.752	.169	.996
Erreur	1682.729	60	28.045		
Total	246737.200	80			
Total corrigé	4968.145	79			

a. R-deux = .661 (R-deux ajusté = .554)

**Tableau 08:** Résultat de l'ANOVA a deux facteurs (variété et campagne) pour la variable Teneur en proline

<b>Tests des effets intersujets</b>					
Source	Somme des carrés de type III	ddl	Carré moyen	F	Signification
Modèle corrigé	9067.607 <sup>a</sup>	19	477.242	53.442	.000
Constante	33898.143	1	33898.143	3795.939	.000
VARIETE	1508.634	9	167.626	18.771	.000
ANNEE	5531.637	1	5531.637	619.437	.000
VARIETE * ANNEE	2027.336	9	225.260	25.225	.000
Erreur	535.806	60	8.930		
Total	43501.557	80			
Total corrigé	9603.414	79			

a. R-deux = .944 (R-deux ajusté = .927)

## Annexe

**Tableau 09:** Résultat de l'ANOVA a deux facteurs (variété et campagne) pour la variable Teneur en malondialdéhyde (MDA).

<b>Tests des effets intersujets</b>					
Source	Somme des carrés de type III	ddl	Carré moyen	F	Signification
Modèle corrigé	5788.700 <sup>a</sup>	19	304.668	41.206	.000
Constante	34649.899	1	34649.899	4686.342	.000
VARIETE	1858.806	9	206.534	27.933	.000
ANNEE	3408.008	1	3408.008	460.927	.000
VARIETE * ANNEE	521.886	9	57.987	7.843	.000
Erreur	443.628	60	7.394		
Total	40882.227	80			
Total corrigé	6232.328	79			

a. R-deux = .929 (R-deux ajusté = .906)

**Tableau 10:** Résultat de l'ANOVA a deux facteurs (variété et campagne) pour la variable libération relative d'électrolytes (EL).

<b>Tests des effets intersujets</b>					
Source	Somme des carrés de type III	ddl	Carré moyen	F	Signification
Modèle corrigé	5687.608 <sup>a</sup>	19	299.348	76.441	.000
Constante	25324.065	1	25324.065	6466.678	.000
VARIETE	1598.549	9	177.617	45.356	.000
ANNEE	2941.889	1	2941.889	751.232	.000
VARIETE * ANNEE	1147.169	9	127.463	32.549	.000
Erreur	234.965	60	3.916		
Total	31246.638	80			
Total corrigé	5922.573	79			

a. R-deux = .960 (R-deux ajusté = .948)

**Tableau 11:** matrice des coefficients de corrélations des différentes variables mesurées chez les dix génotypes de blé dur pour la campagne 2018-2019.

Matrice de corrélation										
variables	HP	NBR E/m <sup>2</sup>	NBR.G/E	PMG	RDT	TRE	CHLL	PROLINE	MDA	EL
Correlation	HP	1.000								
	NBR E/m <sup>2</sup>	-.467-	1.000	.						
	NBR.G/E	-.843-	.464	1.000						
	PMG	.143	-.216-	-.304-	1.000					
	RDT	-.669-	.372	.815	-.670-	1.000				
	TRE	-.550-	.573	.690	.063	.506	1.000			
	CHLL	-.191-	-.205-	.148	.647	-.211-	.189	1.000		
	PROLINE	.162	-.143-	-.416-	.170	-.388-	-.684-	.039	1.000	
	MDA	-.053-	-.054-	-.254-	.012	-.378-	-.570-	-.220-	.627	1.000
	EL	.414	-.215-	-.281-	.274	-.260-	-.224-	.138	.571	-.074-

**Tableau 12:** matrice des coefficients de corrélations des différentes variables mesurées chez les dix génotypes de blé dur pour la campagne 2019-2020.

Matrice de corrélation										
Variabes	HP	Nbr E/m <sup>2</sup>	Nbr G/E	PMG	RDT	TRE	CHLL	PROLINE	MDA	EL
Correlation	HP	1.000								
	Nbr E/M <sup>2</sup>	-.443-	1.000							
	Nbr G/E	-.814-	.297	1.000						
	PMG	.186	-.247-	-.254-	1.000					
	RDT	-.660-	.355	.799	-.464-	1.000				
	TRE	-.644-	.633	.494	.215	.408	1.000			
	CHLL	-.150-	-.143-	.354	.211	-.006-	.260	1.000	-	
	PROLINE	-.376-	.395	.249	-.461-	.295	.117	-.680-	1.000	
	MDA	.116	-.564-	-.209-	-.089-	-.498-	-.540-	.047	.075	1.000
	EL	.710	-.733-	-.514-	-.011-	-.545-	-.897-	-.227-	-.057-	.644

***Valorisation scientifique***

## MITIGATION OF PEG-INDUCES DROUGHT STRESS IN WHEAT (*Triticum durum*) BY EXOGENOUS APPLICATION OF PROLINE

Hayoun Houda, Ykhlef Nadia, Ryma Bouldjedj, Nadir Belbekri

Genetic, Biochemistry and Plant Biotechnology Laboratory, Faculty of Natural Sciences, Constantine 1 University,  
Constantine 25000, Algeria

\*Corresponding author. E-mail: hayoun.houda@yahoo.fr

### ABSTRACT

Drought is considered one of the most important environmental stresses that has serious limitations on production of most crop plants, including wheat. Proline is an amino acid closely associated with plant responses to environmental constraints. This research aims to study the response of four varieties of durum wheat (*Triticum durum*) subjected to water stress stimulated by polyethylene glycol (20% PEG-6000) which is equivalent to osmotic potential of -1.2 Mpa. A total of 4 wheat genotypes were grown hydroponically and four treatments were imposed. Wheat plants exposed to drought stress showed reduced growth, which was correlated with reduced relative water content, chlorophyll content and stomatal conductance as evidenced by principle component analysis (PCA). It also revealed that electrolyte leakage and malondialdehyde (MDA) accumulations were closely related with the declined growth and wheat plants development under drought stress. Importantly, application of 6 mM of exogenous proline improved the growth responses of wheat plants to drought stress. Proline strengthened numerous physio-biochemical processes coupled with decreasing in MDA levels which indicates successful adaptation of wheat plants to drought stress. The results of PCA strongly supported that application of proline in stressful conditions ameliorated the responses of wheat mostly by enhancing physiological and biochemical activities. Eventually, it can be concluded that proline supplementation is one of the useful approaches to alleviate the adverse effects of water stress on wheat crop.

**Keywords:** polyethylene glycol, drought tolerance, *Triticum durum*, exogenous proline.

### INTRODUCTION

Cereals such as wheat, rice, and corn are the most important sources of daily calories and protein among the world's key staple crops. Wheat was the first crop to be domesticated, and it is now the world's most widely consumed food (Abhinandan et al., 2018). Drought is one of the most significant factors restricting crop production around the world because it reduces: plant water content, cell turgor, and affects also transpiration rates (Bahador and Tadayon, 2020). The effects of drought on the wheat plant are variable, depending on the plant's phenological stage, as well as the duration, intensity, and frequency of drought (Sarto et al., 2017). The main consequences of drought in crop plants is slowing down plant growth and development as a result of inhibiting photosynthesis due to the decreased CO<sub>2</sub> availability resulted from stomatal closure (Flexas et al., 2006; Chaves et al., 2009). Water stress inhibits plant growth

by disturbing various biochemical and physiological processes including chlorophyll biosynthesis, membrane degradation and proteins structure destabilization (Kosar et al., 2015). Moreover, leaf water potential and relative water content (RWC) also decrease when plants are subjected to water stress (Arzani and Ashraf, 2016). Additionally, certain potential indicators such as electrolyte leakage, lipid peroxidation (MDA) and reactive oxygen species (ROS) were dramatically high under drought conditions (Abdelaal et al., 2020).

Maintenance of osmotic balance to turgor pressure offset loss is one of principal plants' response to drought. To counteract lower water potential, plant cells make osmotic adjustments by increasing the accumulation of osmolyte solutes (Blum, 2017). Proline is one of the most frequently accumulated osmolyte, playing an essential role in osmoregulation to mitigate the injurious impact of stresses including drought (Dar et

al., 2020), known for their contribution to stress tolerance in *different* ways. As proline acts as the molecular chaperons it has the ability to maintain protein integrity, prevents their aggregation and boosts the activity of several enzymes. (Szabados and Savouré, 2010; Hayat et al., 2012). *Exogenous applications of osmoprotectants* such as proline has attracted researchers due to their high important roles in-plant's defense system against the injurious impact of stress (Hayat et al., 2012; Hossain et al., 2019). According to Abdelaal et al. (2020), 10 mM proline application on water stressed barley plant increased plant dry weights and relative water content as well as chlorophyll concentration. Semida et al. (2020) noticed in onion exposed to drought stress that proline foliar application enhanced growth characteristics, sugar content and leaf water content (RWC). Farooq et al. (2017) reported that the use of proline as an osmotic protector against water stress caused the accumulation of high content of chlorophyll, proline and glycine betaine in the wheat plant. Based on the ideas mentioned above, this study aimed to assess the impact of exogenous proline application on morpho-physiological and biochemical responses of four durum wheat varieties (*Triticum Durum*) subjected to water stress stimulated by PEG-6000 *under controlled conditions*. The study focused on the evaluation of physiological parameters (RWC, stomatal conductance and photosynthetic parameters such as chlorophyll contents, osmolyte accumulation (proline, soluble sugar) and oxidative stress markers (lipid peroxidation, membrane stability).

## MATERIAL AND METHODS

### Plant material and growth conditions

Seeds of four wheat genotypes (*Triticum durum.*), Waha (W), Bidi 17 (B17), Wahbi (WB) and Ain Lahma (AH) were obtained from Technical Institute of Field Crops (ITGC), Constantine. The experiment was conducted at the laboratory of Plant Genetics, Biochemistry and Biotechnology, University of Mentouri Brothers, Constantine I, Algeria. The seeds of wheat varieties were initially

sterilized with sodium hypochlorite solution and then washed with distilled water, then placed in the petri dishes on a wet Whatman paper under optimal conditions of germination in the dark at 25°C temperature. After germination, the seedlings of all genotypes were transplanted to containers (15x25 cm) of hydroponic system containing nutrient solution (Broughton and Dilworth, 1971) at a volume of 300 ml per container. The experiment was carried out in conditioned growth chamber (16 h light/8 h dark photoperiod and at a temperature of 25°C). The seedlings were then cultured in four different nutrient solutions designed as:

**Group 1:** plants were grown in nutriment solution BD and was kept as control (without PEG and exogenous proline treatment) (C).

**Group 2:** plants were grown in nutriment solution BD containing 6 mM proline (C+P).

**Group 3:** plants were grown in nutriment solution BD containing 20% PEG-6000 (S).

**Group 4:** plants were grown in nutriment solution BD containing 20% PEG-6000 + 6 mM proline (S+P).

The proline and PEG concentration were based on preliminary experiments and four replicates per genotype per treatment were performed. Broughton and Dilworth's nutrient solution containing (0 or 6 mM proline) was replaced every week to replenish nutrients. However, the first application of treatments (20% PEG-6000) was applied after a week of growth, and the second application was applied in the third week. After one month of growth, the leaves of control and stressed seedlings have been harvested (in the third stage for the wheat).

### Assessment of physiological and biochemical parameters

#### 1. Growth measurement

After one month of growth, four plants were selected for each treatment to estimate *linear measurements mean value* such shoot and root length measurements.

#### 2. Determination of Relative Water Content (RWC) and Stomatal conductance

Relative water content was measured on leaf sections obtained from the third fully



developed leaves. According to Barrs (1968), the leaves were quickly sealed and fresh weights were determined immediately after excision. After placing them in distilled water for 24h, turgid weight were estimated. Leaf dry weights were measured after drying leaf samples in oven for 24 h at 80°C. Finally, relative water content was calculated according to the following formula:

$$\text{RWC (\%)} = \frac{(\text{fresh weight} - \text{dry weight}) \times 100}{(\text{turgid weight} - \text{dry weight})}$$

Stomatal conductance was measured using a porometer (AP4 Delta-T Devices, Cambridge, UK) on the abaxial leaf surface.

### 3. Determination of chlorophyll content

*Chlorophyll contents were measured according to Lichtenthaler and Wellburn (1983) protocol.* 0.1 g of fresh leaf tissue was crushed in 2 ml of acetone (80%). The light absorption of leaf extract solution was determined at 645, 663 and 470 nm on a spectrophotomete. The pigment concentrations were calculated according to the following equations:

Chlorophyll a:

$$\text{Chl a} = 12.21 \times \text{DO (663)} - 2.81 \times \text{DO (645)}$$

Chlorophyll b:

$$\text{Chl b} = 20.13 \times \text{DO (645)} - 5.03 \times \text{DO (663)}$$

$$\text{Total chlorophyll} = \text{Chl a} + \text{Chl b.}$$

### 4. Determination of total soluble sugars

The soluble sugar content was measured according to Dubois et al. (1956) method. An amount of approximately 0.1 g of Fresh materials were extracted in 80% ethanol for 48 h. After alcohol evaporation, the residue was homogenized with 20 mL of distilled water. Afterward, 1 ml of the extract was treated with 1ml of 5% phenol and 5mL of concentrated sulfuric acid. After 20 min of incubation at 30°C, absorbance was measured at 485 nm. Soluble sugar content were determined using glucose standard.

### 5. Proline content determination

Free proline content in-leaves was measured using Troll and Lindsley method

(1955). 0.1 g of fresh leaves of control and treated plants were extract in 2 mL of 40% methanol for 60 min at 85°C. 1 mL of the extract was added into the test tube containing ninhydrin, acetic acid and orthophosphoric. The reaction mixture was heated in a boiling water bath at 100°C for 60 min. After cooling the mixture on ice, 5 mL of toluene was added and thoroughly mixed. Finally, the toluene phase was separated and the absorbance of the pink red upper phase was recorded at 520 nm using a spectrophotometer against a toluene blank.

### 6. Determination of total protein content

Quantification of total soluble protein was carried out using the method described by Bradford (1976). Thus, a quantity of 0.2 g of fresh plant tissue was grinded with 0.6 mL of Tris-Hcl buffer (pH 8.1). The mixture was centrifuged 20 min at 4°C. Then, 10 µl of the obtained extract was added to 5 µl of Bradford solution and 290 µl of extraction buffer. Thereafter, the absorbance was measured at 595 nm. The protein content was determined by spectrophotometer using bovine serum albumin as standard.

### 7. Estimation of Lipid Peroxidation and Electrolyte Leakage (EL)

Lipid peroxidation was estimated by measuring the level of malondialdehydes (MDA) as an indicator of membrane stability. Heath and Paker method (1968) was followed. Fresh samples of 0.5 g leaves were ground and homogenized in 0.1% trichloroacetic acid (TCA), and centrifuged at 12,000 rpm for 15 min. To an aliquot (0.5 mL) of the supernatant, solution of 0.5% thiobarbituric acid (TBA) in 20% TCA that was added. The blend was heated at 95°C for 30 min and directly cooled in an ice bath. Centrifugation was carried out at 12,000 rpm for 15 min and absorbance was measured at 532 nm by a spectrophotometer. The non-specific value at 600 nm absorption was subtracted. The total MDA contents were calculated using the extinction coefficient at  $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ .

Electrolyte leakage was quantified as a way to estimate the degree of membrane

integrity. For the determination of electrolyte leakage (EL), the procedure of Bajji et al. (2002) was followed. Fresh samples of leaves were washed and sliced into tiny fragments, then placed in a test tube filled with 10 mL distilled water and incubated for 24 h at room temperature. Preliminary EC1 was measured, samples were boiled at 100°C for 60 min once more and the second EC2 was estimated. Total EL was calculated using the following relation:  $EL (\%) = (EC1/EC2) \times 100$ .

### 8. Statistical Analysis

All experimental data reported as averages of four replicates and analyzed by two-ways analysis of variance (ANOVA). The data were expressed as the mean  $\pm$  standard error. Significant differences between means were determined using the Newman and Keuls test, at  $p \leq 0.05$ . A statistical software package was also used to do principal components analysis (PCA) (SPSS V.26).

## RESULTS AND DISCUSSION

### Linear leaf and root growth

The effects of water stress and exogenous proline on the linear growth of durum wheat varieties were evaluated after one month of growth, by measuring the shoot and root length. Under PEG treatment a significant decrease in shoot and root length were reported ( $p \leq 0.05$ , Table 1) for all studied genotypes. This decline reached -32% in leaves of Wahbi and -26% in roots of Waha respectively, compared with controls plants. The addition of proline in the nutrient solution was found to be effective in improving seedling growth under control and water stress conditions. Under PEG treatment, an increase in growth estimated at +22.07% in leaves of Wahbi and +16.98% in roots of Waha in comparison to the stressed plants without proline.

Table 1. Shoot length (cm) and root length (cm) of durum wheat subjected to different PEG and exogenous proline treatments

Genotype	Shoot length (cm)				Root length (cm)			
	Treatment				Treatment			
	C	S	C+P	S+P	C	S	C+P	S+P
B17	18,55 $\pm$ 0,65 <sup>a</sup>	14,67 $\pm$ 0,78 <sup>c</sup>	19,43 $\pm$ 0,59 <sup>a</sup>	18,14 $\pm$ 0,17 <sup>b</sup>	15,70 $\pm$ 2,34 <sup>a</sup>	13,15 $\pm$ 3,99 <sup>c</sup>	16,18 $\pm$ 0,23 <sup>a</sup>	15,43 $\pm$ 0,68 <sup>a</sup>
WAHA	15,92 $\pm$ 2,37 <sup>b</sup>	11,48 $\pm$ 2,35 <sup>c</sup>	17,15 $\pm$ 1,45 <sup>b</sup>	16,32 $\pm$ 0,45 <sup>b</sup>	14,45 $\pm$ 2,37 <sup>b</sup>	9,77 $\pm$ 0,46 <sup>c</sup>	13,90 $\pm$ 0,74 <sup>b</sup>	11,43 $\pm$ 0,43 <sup>c</sup>
WAHBI	13,03 $\pm$ 1,81 <sup>b</sup>	8,85 $\pm$ 0,54 <sup>d</sup>	14,20 $\pm$ 2,28 <sup>b</sup>	12,01 $\pm$ 1,61 <sup>b</sup>	13,73 $\pm$ 0,73 <sup>b</sup>	10,45 $\pm$ 1,38 <sup>c</sup>	13,83 $\pm$ 0,82 <sup>b</sup>	12,23 $\pm$ 2,07 <sup>b</sup>
A.LAHMA	13,95 $\pm$ 0,81 <sup>b</sup>	9,75 $\pm$ 0,70 <sup>d</sup>	14,73 $\pm$ 0,30 <sup>b</sup>	14,03 $\pm$ 0,63 <sup>b</sup>	13,71 $\pm$ 0,57 <sup>b</sup>	12,53 $\pm$ 2,06 <sup>c</sup>	16,20 $\pm$ 0,35 <sup>a</sup>	13,32 $\pm$ 1,18 <sup>b</sup>

Values represent the means of four replicates  $\pm$  SD. C (0 PEG + 0 proline), C+P (0 PEG + 6 mM proline), S (20% PEG + 0 proline), S+P (20%PEG + 6 mM proline). Different letters in columns show significant differences ( $p \leq 0.05$ ) according to Student-Newman-Keuls Test.

### Relative water content (RWC%) and stomatal conductance

The percentage of relative water contents (RWC) differed among various treatments (Figure 1). The highest percentage of RWC was observed in control treatment for all studied genotypes. However, a significant reduction in RWC was found in response to PEG- imposed water stress compared to the

control. The percentage of decreasing is more important in Wahbi genotype with -41.79%. The addition of exogenous proline did not significantly affect the response of control plants. Nonetheless, under stressed condition, the application of exogenous proline improved the relative leaves water content for all studied genotypes. The RWC value was equal to untreated control.

HAYOUN HOUDA ET AL.: MITIGATION OF PEG-INDUCES DROUGHT STRESS IN WHEAT (*Triticum durum*) BY EXOGENOUS APPLICATION OF PROLINE

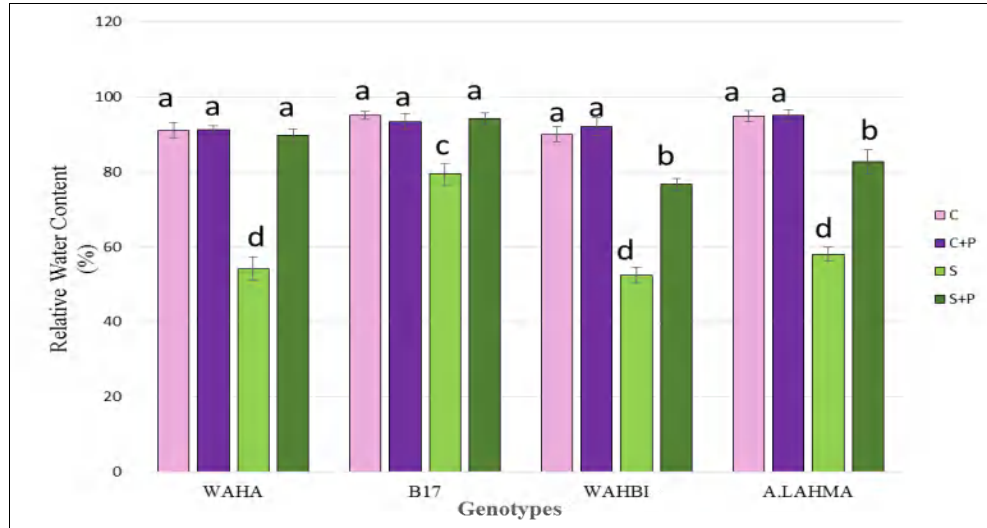


Figure 1. Effect of exogenous proline on relative water content in different genotypes of wheat under control and PEG-induced water stress.

Values are the mean  $\pm$  SD of four replicates. Different letters show significant differences ( $p \leq 0.05$ ).

Stomatal conductance was significantly influenced by imposed stresses in all studied genotypes (Figure 2). The reduction in stomatal conductance was -75.94% in Waha genotype leaves compared to control plants. The presence of proline under

stressed condition induce a significant increase in stomatal conductance. The percentage of increasing is important in W genotype with 266.18% in comparison of the stressed without proline.

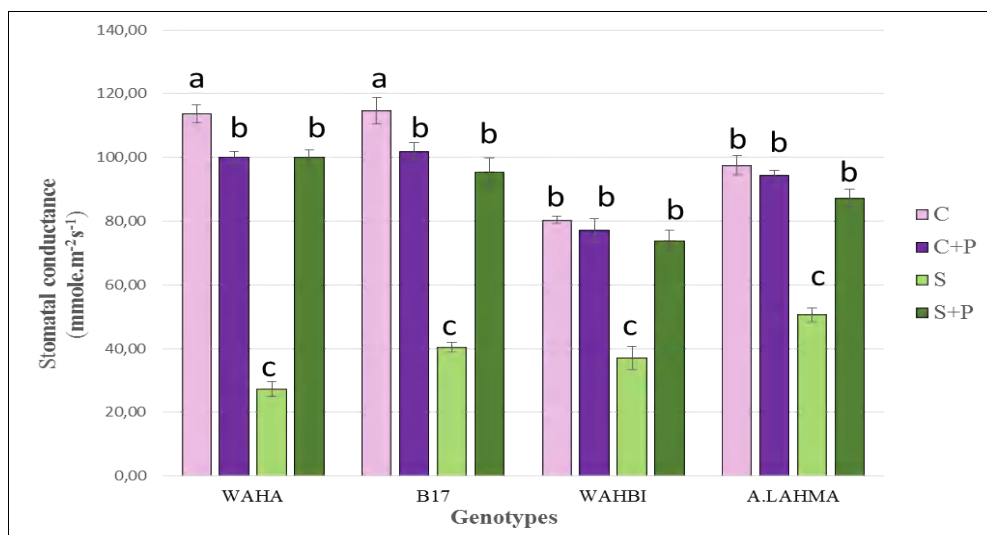


Figure 2. Effect of exogenous proline on stomatal conductance in different genotypes of wheat under control and PEG-induced water stress.

Values are the mean  $\pm$  SD of four replicates. Different letters show significant differences ( $p \leq 0.05$ ).

### Chlorophyll Content

The results obtained show a significant difference in the variation of chlorophyll content between control and stressed plants (Figure 3). Chlorophyll content decline under

water stress with a reduction of -16.18% in Waha genotype. Proline addition in the nutrient solution reduced the adverse effects of water stress on chlorophyll content.

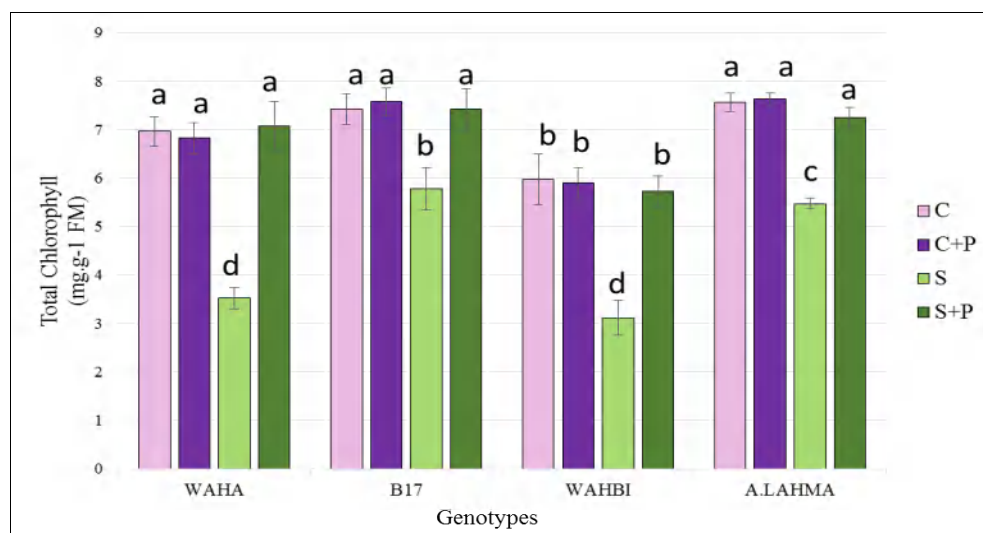


Figure 3. Effect of exogenous proline on chlorophyll content in different genotypes of wheat under control and PEG-induced water stress.

Values are the mean  $\pm$  SD of four replicates. Different letters show significant differences ( $p \leq 0.05$ ).

### Lipid Peroxidation and Electrolyte Leakage (EL)

Data presented in (Table 2) showed a high production of malondialdehyde (MDA) during PEG-imposed water stress for all studied genotypes. The recorded values were between 71.85 and 41.86 ( $\text{nMol.g}^{-1}\text{FW}$ ) in Waha and A.lahma leaves varieties, respectively. A considerable increase (358.02%) in MDA

content was observed in Waha genotype compared to the control. Also the presence of PEG generated a significant increase in electrolyte leakage (+144.57%) in Waha variety. Under stressful conditions a significant decrease in membrane alteration and MDA production was recorded following the addition of proline to the nutrient solution.

Table 2. Malondialdehyde and Electrolyte leakage of durum wheat subjected to different PEG and exogenous proline treatments

Genotype	MDA ( $\text{nMol.g}^{-1}\text{FW}$ )				EL (%)			
	Treatment				Treatment			
	C	S	C+P	S+P	C	S	C+P	S+P
B17	20,79 $\pm$ 1,20 <sup>d</sup>	61,49 $\pm$ 2,07 <sup>b</sup>	17,35 $\pm$ 1,08 <sup>d</sup>	33,27 $\pm$ 2,25 <sup>d</sup>	7,30 $\pm$ 0,74 <sup>c</sup>	15,82 $\pm$ 1,45 <sup>a</sup>	7,34 $\pm$ 0,56 <sup>c</sup>	6,77 $\pm$ 0,73 <sup>c</sup>
WAHA	15,68 $\pm$ 0,54 <sup>d</sup>	71,85 $\pm$ 3,10 <sup>a</sup>	15,08 $\pm$ 0,80 <sup>d</sup>	16,64 $\pm$ 1,74 <sup>d</sup>	6,70 $\pm$ 0,67 <sup>c</sup>	16,40 $\pm$ 0,87 <sup>a</sup>	6,12 $\pm$ 0,83 <sup>c</sup>	8,12 $\pm$ 0,52 <sup>c</sup>
WAHBI	17,74 $\pm$ 0,91 <sup>d</sup>	59,41 $\pm$ 3,68 <sup>b</sup>	18,05 $\pm$ 2,30 <sup>d</sup>	19,92 $\pm$ 1,23 <sup>d</sup>	7,93 $\pm$ 0,83 <sup>c</sup>	14,45 $\pm$ 0,88 <sup>a</sup>	8,17 $\pm$ 0,60 <sup>c</sup>	6,77 $\pm$ 0,71 <sup>c</sup>
A.LAHMA	21,73 $\pm$ 1,93 <sup>d</sup>	41,86 $\pm$ 1,38 <sup>b</sup>	23,70 $\pm$ 2,43 <sup>d</sup>	20,91 $\pm$ 1,52 <sup>d</sup>	7,84 $\pm$ 0,97 <sup>c</sup>	11,53 $\pm$ 0,87 <sup>b</sup>	8,21 $\pm$ 1,08 <sup>c</sup>	11,13 $\pm$ 0,77 <sup>b</sup>

Values represent the means of four replicates  $\pm$  SD. C (0 PEG + 0 proline), C+P (0 PEG + 6 mM proline), S (20% PEG + 0 proline), S+P (20%PEG + 6 mM proline). Different letters in columns show significant differences ( $p \leq 0.05$ ) according to Student-Newman-Keuls Test.

### Endogenous Proline content

Proline content variations in wheat leaves are presented in (Figure 4). It showed a marked accumulation in stressed plants compared to the control. The important increase was registered in stressed plants for

Wahbi genotype with 369.27%. The effect of exogenous proline under stress conditions resulted in a significant increase in endogenous proline content. The highest accumulation of proline was recorded in A.lahma variety with 91.17% increase in leaves.

HAYOUN HOUDA ET AL.: MITIGATION OF PEG-INDUCES DROUGHT STRESS IN WHEAT (*Triticum durum*) BY EXOGENOUS APPLICATION OF PROLINE

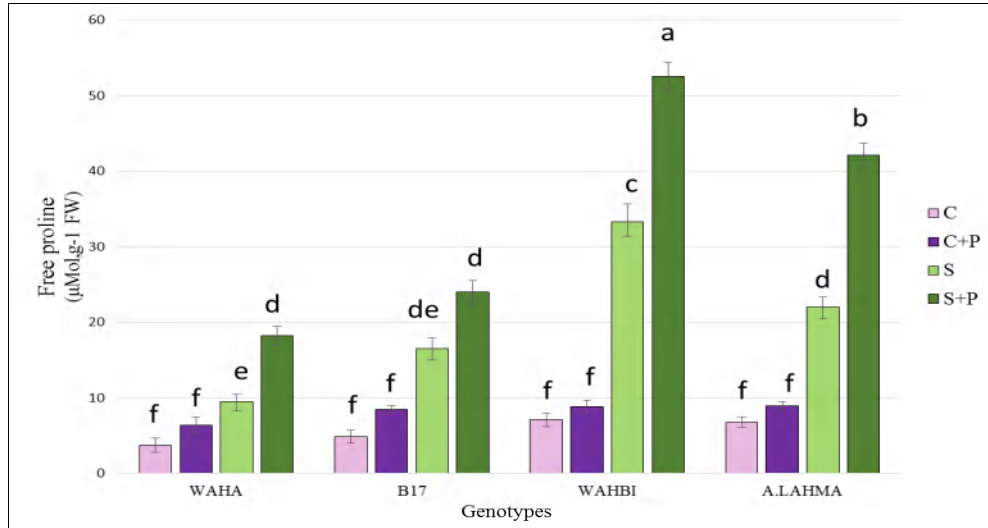


Figure 4. Effect of exogenous proline on free proline content in different genotypes of wheat under control and PEG-induced water stress.

Values are the mean  $\pm$  SD of four replicates. Different letters show significant differences ( $p \leq 0.05$ ).

### Soluble sugar accumulation

The soluble sugar content increases significantly under PEG-induced water stress conditions as shown in (Figure 5). The important percentage (+393.38%) of increasing

is observed in Wahbi genotype compared to the control. Under PEG-induced water stress conditions, the presence of proline, induced a variation in the accumulation of soluble sugars compared to stressed plants.

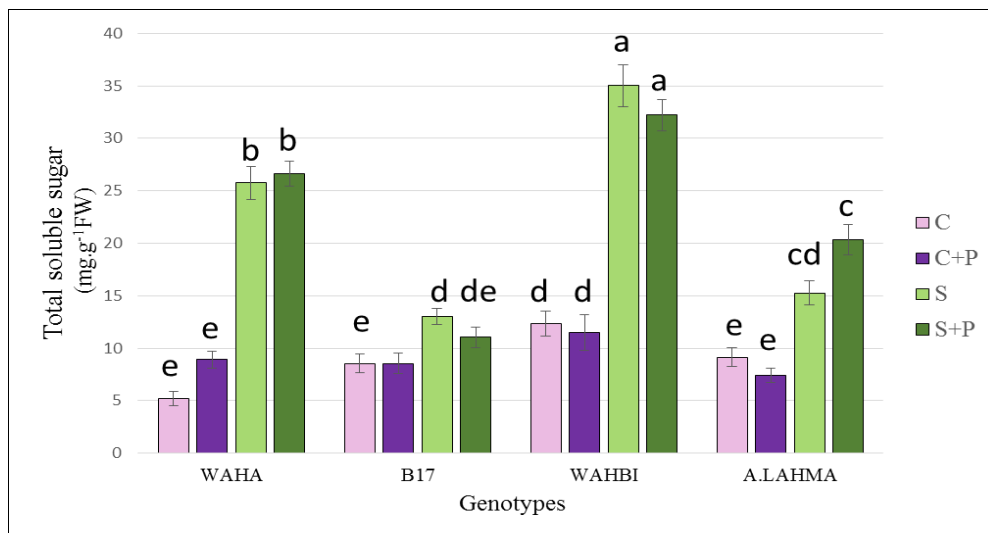


Figure 5: Effect of exogenous proline on total soluble sugar content in different genotypes of wheat under control and PEG-induced water stress.

Values are the mean  $\pm$  SD of four replicates. Different letters show significant differences ( $p \leq 0.05$ ).

### Total soluble protein content

PEG treatment reduced soluble protein content in leaves, estimated at - 94.43% in Wahbi cultivars (Figure 6). In contrast, the application of 6 mM proline increased

protein content under stress condition. The highest value ( $4.06 \text{ mg.g}^{-1} \text{ DW}$ ) was recorded in cultivar B17 which correspond to a 186.44% increase compared to stressed plants without proline.

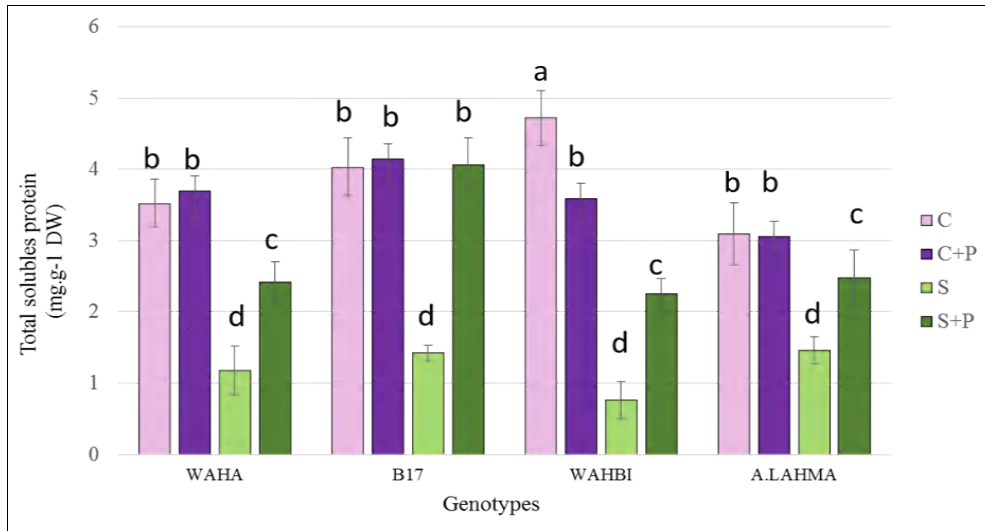


Figure 6. Effect of exogenous proline on total soluble protein content in different genotypes of wheat under control and PEG-induced water stress.

Values are the mean  $\pm$  SD of four replicates. Different letters show significant differences ( $p \leq 0.05$ ).

### Principal Component Analysis (PCA)

A principal component analysis was carried out to evaluate the response of the durum wheat genotypes to the different imposed treatments and to determine the correlations between the different studied parameters (morpho-physiological and biochemical). The correlations of the variables measured with the first two axes (axis F1 and axis F2) are shown in (Figure 7); they

explained 70.50 and 14.17%, respectively, i.e., 84.68% of complete database.

Axis F1 was positively defined by RWC, chlorophyll content, stomatal conductance and proteins content while it was negatively correlated with oxidative status parameters (EL and MDA). Axis F2 is defined by proline content and total soluble sugars, parameters involved in osmo-adjustment, showed a strong positive correlation.

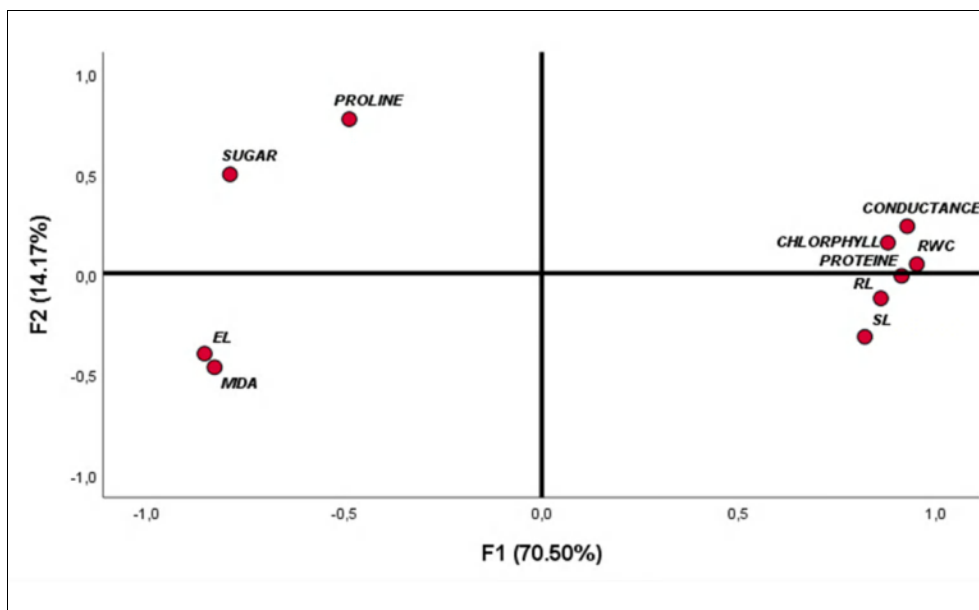


Figure 7: Correlation diagram between the studied parameters under different experimental conditions. The measured parameters included shoot length (SL), root length (RL), relative water content (RWC), stomatal conductance, chlorophyll content, malondialdehyde (MDA), electrolyte leakage (EL), proline, sugar and protein content.

HAYOUN HOUDA ET AL.: MITIGATION OF PEG-INDUCES DROUGHT STRESS  
IN WHEAT (*Triticum durum*) BY EXOGENOUS APPLICATION OF PROLINE

The graphical representation of four varieties under different treatment (Figure 8) indicates that under control condition (C) and with exogenous proline (C+P) all studied varieties are superposed and form a single group (G1) on the positive side of the F1 and had a close association with most morphological and physiological parameters, while the stressed plants without exogenous proline are showed on the negative side of the same axis and had an intimate association with MDA and EL (G2). These results confirmed that water stress causes the disturbance of

physiological functions which is accompanied by cellular homeostasis disruption induces lipid peroxidation with the accumulation of malondialdehyde (MDA).

Interestingly, application of exogenous proline during PEG- imposed water stress is beneficial for plants (G3) to maintain their development and functions. These results imply that exogenous proline, was an effective compound reducing the harmful effects of water stress and the improvement of plant responses to this stress.

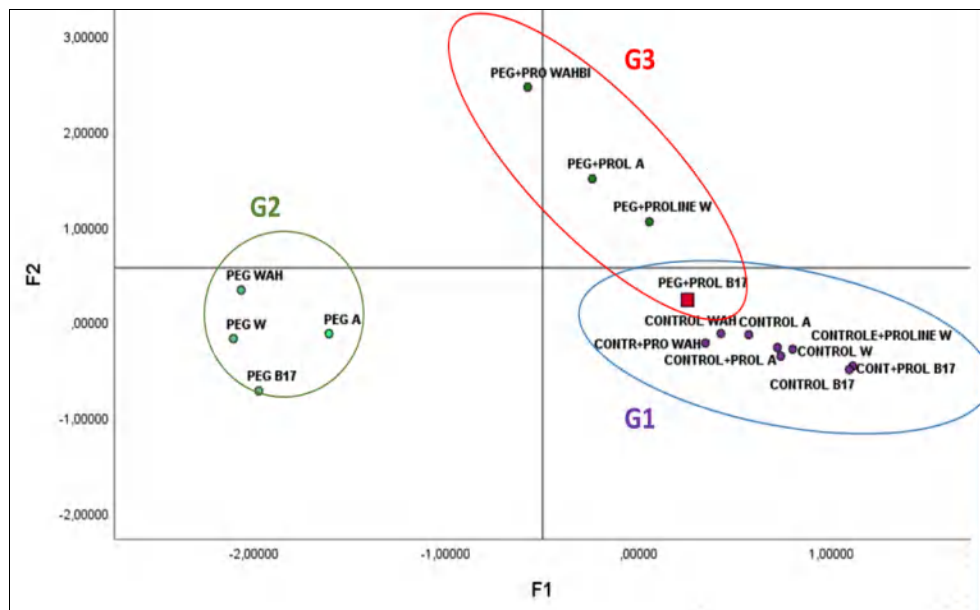


Figure 8: Graphing diagram of wheat based on studied parameters under different experimental conditions

Water stress is one of the main factors limiting plants' growth and decreasing the production of vegetable crops. It causes several physiological and biochemical changes including cell membrane degradation, a decrease of tissue water content; and alters photosynthetic pigments. These effects contribute negatively on plant growth, development and, consequently, reduce crop productivity (Semida et al., 2020). In this research, *shoot and root length were negatively affected by the stress induced by PEG-6000*. In fact, the capacity of plants to absorb water generally; declines in osmotic-stressed plants, reduces the relative turgidity and causes protoplasm dehydration due to turgor loss that results in reduced cell

proliferation and cell division which eventually reduced the growth plant (Kumari et al., 2014). Nevertheless, exogenous proline (6 mM) application mitigated the inhibition of plant growth for all studied varieties, these effects may be correlated with enhanced absorption of essential nutrient, especially  $Mg^{+2}$ ,  $k^{+}$  and  $Ca^{+2}$  which stimulates plants' growth (Kavi Kishor et al., 2015). Similar results have been obtained in many species, such as onion (Semida et al., 2020).

Photosynthetic pigment levels and relative water content are considered important physiological indicators to assess the tolerance levels of various crops to different abiotic stresses, including water stress (Hussain et al., 2021). In our investigation,

treatment with PEG-6000 significantly reduced these two parameters for the genotypes studied compared to their controls. Khalilzadeh et al. (2016) also reported that water stress significantly reduced the wheat photosynthetic pigment content, which could be due to increased ROS levels, which led to lipid peroxidation and consequently to chlorophyll degradation. Moreover, the presence of exogenous proline under stress conditions attenuated the decrease in chlorophyll content and contributed to maintain high TRE compared to untreated stressed plants. This would probably be due to active osmoregulation, following the establishment of water stress tolerance mechanism, namely osmotic adjustment. Pervaiz et al. (2019) showed the beneficial effect of foliar application of proline that modulated the physiological and biochemical processes in wheat cultivars. Similar results were obtained by Altuntaş et al. (2020) on corn.

In this study, PEG-6000 negatively affected the stomatal conductance of all tested genotypes. During water deficit, the closure of the stomata allows the plant to maintain a favorable water balance. Exogenous proline promotes the uptake of  $K^+$  ions by guard cells, which allows the regulation of turgor pressure and consequently the increase of stomatal conductance.

The products of membrane lipid peroxidation, in particular MDA considered as an indicator of oxidative stress in plants (Ma et al., 2015). Osmotic stress, affect cell membrane frequently associated with the increasing membrane permeability and losing of membrane integrity. In our survey, a significant increase has been reported for both MDA content and the rate of EL in leaves of plants exposed to PEG. This results are caused by excessive production of reactive oxygen species (ROS) in wheat leaves (Hanif et al., 2021). However, in the presence of exogenous proline a significant decreasing in MDA content and the rate of EL were observed. Proline helps in free radicals scavenging, therefore preventing plants from negative effects of these ROS

during drought stress. Concordant results were observed in sugar beet under water stress (Alkahtani et al., 2021).

Facing the harmful effects of water stress, plants proceed to an osmotic adjustment action through the synthesis of osmolytes such as sugars and proline. They maintain the membrane structure and stabilization, as they also intervene in the elimination of reactive oxygen species (ROS) induced by stress (Ghosh et al., 2021). In this study, the effect of PEG-6000 resulted in a significant accumulation of proline and sugars in wheat leaves. The accumulation of proline may be due to stimulation of its biosynthesis or inhibition of its degradation and slowed protein oxidation rate (Hayat et al., 2021). According to Hayat et al. (2012) sugars could act as osmolytes and contribute to the protection of enzymes as well as the integrity of the plasma membrane in response to osmotic stress. On the other hand, exogenous proline significantly amplifies the accumulation of endogenous proline under stress conditions and produces antioxidant enzymes (Bhaskara et al., 2015). These results confirm those obtained by Hayat et al. (2021) on pigeon pea seedlings and Noreen et al. (2018) on soft wheat cultivars.

PEG-6000 caused a significant drop in total protein content. In general, water stress alters the expression, accumulation and synthesis of proteins and thus causes protein denaturation. Nonetheless, an increase in protein content has been observed in the presence of proline under stress conditions, this is mainly due to the role of proline in protecting the structure and stabilizing proteins (Ashraf and Foolad, 2007).

## CONCLUSIONS

This study was planned to examine the physiological and biochemical processes that occur in durum wheat plants in response to PEG- imposed water stress. The growth characters, physiological and biochemical parameters of wheat were considerably influenced by PEG treatment. Nevertheless, our results showed that application of exogenous proline at a 6 mM level can



HAYOUN HOUDA ET AL.: MITIGATION OF PEG-INDUCES DROUGHT STRESS  
IN WHEAT (*Triticum durum*) BY EXOGENOUS APPLICATION OF PROLINE

reduce the negative effects of water stress in durum wheat plants by improving growth performance, which might be related to enhance total chlorophyll, relative water content and improved cell turgor.

Proline treatment also alleviated the membrane damage and reduced MDA level. These results indicate the capacity of proline to improve the tolerance of wheat plants confronted to water constraint. Hence, our findings provide an important prospect for proline use in the amelioration of vegetable production under water stress.

### ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Dr. Abdelkader Benbelkacem, Research Director of the National Institute of Agronomic Research of Algeria - Constantine. We also thank Mrs. Chafika Zahraoui.

### REFERENCES

- Abdelaal, K.A.A., Rashed, S.H., Ragab, A., Hossain, A., EL Sabagh, A., 2020. *Yield and quality of two sugar beet (*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris* var. *altissima* Döll) cultivars are influenced by foliar application of salicylic acid, irrigation timing, and planting density*. Acta Agriculturae Slovenica, 115(2): 273-282.
- Abhinandan, K., Skori, L., Stanic, M, Hickerson, N.M.N., Jamshed, M., Samuel, M.A., 2018. *Abiotic stress signaling in wheat - An inclusive overview of hormonal interactions during abiotic stress responses in wheat*. Frontiers in Plant Science, 9(6): 1-25.
- Alkahtani, M.D., Hafez, Y.M., Attia, K., Rashwan, E., Husnain, L.A., AlGwaiz, H.I., Abdelaal, K.A., 2021. *Evaluation of silicon and proline application on the oxidative machinery in drought-stressed sugar beet*. Antioxidants, 10: 398.
- Altuntaş, C., Demiralay, M., Sezgin Muslu, A., Terzi, R., 2020. *Proline-stimulated signaling primarily targets the chlorophyll degradation pathway and photosynthesis associated processes to cope with short-term water deficit in maize*. Photosynth, 144: 35-48.
- Arzani, A., and Ashraf, M., 2016. *Smart engineering of genetic resources for enhanced salinity tolerance in crop plants*. Critical Reviews in Plant Sciences, 35(3): 146-189.
- Bahador, M., and Tadayon, M.R., 2020. *Investigating of zeolite role in modifying the effect of drought stress in hemp: antioxidant enzymes and oil content*. Industrial Crops and Product, 144: 1-10.
- Bajji, M., Kinet, J.M., Lutts, S., 2002. *The use of the electrolyte leakage method for assessing cell membrane stability as a water stress tolerance test in durum wheat*. Plant Growth Regulation, 36(1): 61-70.
- Barrs, H.D., 1968. *Determination of water deficits in plant tissues*. Water Deficits and Plant Growth: 235-368.
- Bhaskara, G.B., Yang, T.H., Verslues, P.E., 2015. *Dynamic proline metabolism: importance and regulation in water limited environments*. Frontiers in Plant Science, 6: 484.
- Blum, A., 2017. *Osmotic adjustment is a prime drought stress adaptive engine in support of plant production*. Plant Cell Environment, 40(1): 4-10.
- Bradford, M.M., 1976. *A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding*. Analytical Biochemistry, 72: 248-254.
- Broughton, W.J., and Dilworth, M.J., 1971. *Control of leghaemoglobin synthesis in snake beans*. Biochemical Journal, 125(4): 1075-1080.
- Chaves, M.M., Flexas, J., Pinheiro, C., 2009. *Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell*. Annals of Botany, 103: 551-560.
- Dar, M.I., Naikoo, M.I., Rehman, F., Naushin, F., Khan, F.A., 2020. *Proline accumulation in plants: Roles in stress tolerance and plant development*. Osmolytes and Plants Acclimation to Changing Environment: Emerging Omics Technologies, Springer, 1: 155-166.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.T., Smith, F., 1956. *Colorimetric method for determination of sugars and related substances*. Analytical Chemistry, 28(3): 350-356.
- Farooq, M., Nawaz, A., Chaudhry, M., Indrasti, R., Rehman, A., 2017. *Improving resistance against terminal drought in bread wheat by exogenous application of proline and gamma-aminobutyric acid*. Journal of Agronomy and Crop Science, 203(6): 464-472.
- Flexas, J., Bota, J., Galmés, J., Medrano, H., Ribas-Carbo, M., 2006. *Keeping a positive carbon balance under adverse conditions: responses of photosynthesis and respiration to water stress*. Physiologia Plantarum, 127: 343-352.
- Ghosh, U.K., Islam, M.N., Siddiqui, M.N., Khan, M.A.R., 2021. *Understanding the roles of osmolytes for acclimatizing plants to changing environment: a review of potential mechanism*. Plant Signal Behav. 16(8): 1913306.
- Hanif, S., Saleem, M., Sarwar, M., Irshad, M., Shakoor, A., Wahid, M., 2021. *Biochemically triggered heat and drought stress tolerance in rice by proline application*. Journal of Plant Growth, 40: 305-312.
- Hayat, S., Hayat, Q., Alyemeni, M.N., Wani, A.S., Pichtel, J., Ahmad, A., 2012. *Role of proline under*

- changing environments: A review.* Plant Signaling. Behavior, 7(11): 1456-1466.
- Hayat, K., Khan, J., Khan, A., Ullah, S., Ali, S., Fu, Y., 2021. *Ameliorative effects of exogenous Proline on photosynthetic attributes, nutrients uptake, and oxidative stresses under cadmium in Pigeon pea (Cajanus Cajan L.).* Plants, 10(4): 796.
- Heath, R.L., and Packer, L., 1968. *Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation.* Archives of Biochemistry and Biophysics, 125(1): 189-198.
- Hossain, M.A., Kumar, V., Burritt, D.J., Fujita, M., Mäkelä, P., 2019. *Osmoprotectant-mediated abiotic stress tolerance in plants.* Proline Metabolism and Its Functions in Development and Stress Tolerance, Springer: 41-72.
- Hussain, R., Ayyub, C.M., Shaheen, M.R., Rashid, S., Nafees, M., Ali, S., Butt, M., Ali, M., Maqsood, A., Fiaz, S., 2021. *Regulation of osmotic balance and increased antioxidant activities under heat stress in Abelmoschus esculentus L. Triggered by Exogenous Proline Application,* Agronomy, 11(4): 685.
- Kavi Kishor, P.B., Hima Kumari, P., Sunita, M., Sreenivasulu, N., 2015. *Role of proline in cell wall synthesis and plant development and its implications in plant ontogeny.* Frontier. Plant Science, 544 (6): 1-17.
- Khalilzadeh, R., Sharifi, R.S., Jalilian, J., 2016. *Antioxidant status and physiological responses of wheat (Triticum aestivum L.) to cycocel application and bio fertilizers under water limitation condition.* Journal of Plant Interaction, 11: 130-137.
- Kosar, F., Akram, N.A., Ashraf, M., 2015. *Exogenously-applied 5-aminolevulinic acid modulates some key physiological characteristics and antioxidative defense system in spring wheat (Triticum aestivum L.) seedlings under water stress.* South African Journal of Botany, 96: 71-77.
- Kumari, A., Sairam, R.K., Singh, S.K., Krishna, G.K., 2014. *Early growth response: an indicator of subsequent growth and yield of wheat genotypes grown under simulated water stress condition.* Indian Journal Plant Physiology, 19: 94-100.
- Lichtenthaler, H.K., and Wellburn, A.R., 1983. *Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents.* Biochemical. Society Transactions, 11: 591-592.
- Ma, J., Du, G., Li, X., Zhang, C., Guo, J., 2015. *A major locus controlling malondialdehyde content under water stress is associated with Fusarium crown rot resistance in wheat.* Mol. Genet. Genomics, 290: 1955-1962.
- Noreen, S., Akhter, M.S., Yaamin, T., Arfan, M., 2018. *The ameliorative effects of exogenously applied proline on physiological and biochemical parameters of wheat (Triticum aestivum L.) crop under copper stress condition.* Journal of Plant Interactions, 13(1): 221-230.
- Pervaiz, A., Iqbal, A., Khalid, A., Manzoor, A., Noreen, S., Ayaz, A., Zafar, Z.U., Ashraf, M., 2019. *Proline induced modulation in physiological responses in wheat plants.* Journal of Agriculture and Environmental Science, 8: 112-119.
- Sarto, M.V.M., Sarto, J.R.W., Rampim, L., Rosset, J.S., Bassegio, D., da Costa, P.F., Inagaki, A.M., 2017. *Wheat phenology and yield under drought: a review.* Australian Journal of Crop Science, 8: 941-946.
- Semida, W.M., Abdelkhalika, A., Mohamed, O.A., Rady, M.O.A., Abd El-Mageed, T.A., 2020. *Exogenously applied proline enhances growth and productivity of drought stressed onion by improving photosynthetic efficiency, water use efficiency and up-regulating osmoprotectants.* Scientia Horticulturae, 272: 109580.
- Szabados, L., and Savouré, A., 2010. *Proline: a multifunctional amino acid.* Trends Plant Science, 15(2): 89-97.
- Troll, W., and Lindsley, J.A., 1955. *Photometric method for the determination of proline.* Journal of Biological Chemistry, 215: 655-660.

**Nom :** HAYOUN

Soutenu le : /2023

**Prénom :** houda

Thèse Présentée en Vue de l'Obtention du Diplôme de Doctorat  
3ème cycle

**Spécialité:** Biotechnologie végétale et environnement-Biologie et génomique végétale-

**Thème :** Rôles des dérivés de glutamate et adaptation du blé dur à la sécheresse : cas de la proline et de la glutamine.

L'ajustement osmotique est considéré comme une caractéristique importante associée à la tolérance à la sécheresse des plantes cultivées. La présente étude s'est fixée comme objectif d'évaluer les réponses physiologiques, biochimiques et moléculaires chez le blé dur soumis au stress hydrique. Ainsi d'étudier les effets de la proline exogène sur la variation de ces paramètres en condition de stress hydrique. Quatre expérimentations ont été réalisées sur dix variétés de blé dur. Deux d'entre elles en conditions contrôlées en chambre de culture et une en conditions semi- contrôlées sous serre et la dernière en plein champs. En conditions contrôlées, le stress hydrique a été imposé par addition de polyéthylèneglycol-6000 et sous serre par un arrêt d'arrosage. Tandis que l'essai en plein champs a été conduit durant deux campagnes agricoles 2018/2019 et 2019/2020. Au niveau physiologique et biochimique la caractérisation de la réponse des génotypes a été effectuée en mettant l'accent sur divers indices (conductance stomatique, teneur relative en eau), l'accumulation d'osmolytes (proline, sucres et glutamine synthétase) et les marqueurs du stress oxydatif (teneur en MDA et taux de fuite d'électrolytes). D'après Les résultats obtenus, l'arrêt d'arrosage a affecté l'ensemble des paramètres étudiés, révèlent des différences génotypiques hautement significatives pour l'ensemble des paramètres mesurés. De même les résultats obtenus suite à l'ajout du PEG en conditions contrôles a engendré les mêmes effets sur l'ensemble des génotypes, néanmoins, la présence de la proline exogène a amélioré efficacement la réponse des plantes. Cet effet bénéfique sur la croissance foliaire et racinaire des plantes est accompagné par une amélioration du statut hydrique des plantes et une atténuation dans l'accumulation des MDA et le taux de fuite d'électrolytes, et par conséquent, il prévient l'altération de l'intégrité membranaire. D'autre part, l'analyse d'expression des gènes candidats a révélé une surexpression des gènes P5CS, P5CR, en conditions stressantes. Les niveaux d'expression les plus marqués sont enregistrés chez les variétés Wahbi et A lehma. Une surexpression de ces gènes semble améliorer la tolérance au déficit hydrique. Quant aux résultats obtenus suite aux essais en plein champs, révèlent que l'ensemble des caractères agronomiques, physiologiques et biochimiques restent influencés par la disponibilité en eau. Aussi les résultats obtenus suggèrent la possibilité d'exploité la proline exogène pour minimiser les effets du stress hydrique.

**Mots clés :** *Triticum durum*, stress hydrique ,PEG, tolérance, proline, glutamate, proline exogène.

**Laboratoire de recherche :**laboratoire de Génétique Végétale, Biochimie et Biotechnologie.

**Jury d'évaluation:**

<b>Président:</b>	Pr. Abdelhamid DJEKOUN	Université des Frères Mentouri Constantine I
<b>Encadreur:</b>	Pr. Nadia YKHLEF	Université des Frères Mentouri Constantine I
<b>Examineur :</b>	Pr. Ratiba BOUSBA,	Université des Frères Mentouri ConstantineI.
<b>Examineur :</b>	Dr. Abdelkader BENBELKACEM	Directeur de recherche INRA Constantine.
<b>Examineur :</b>	Dr. Hakima BELATAR.	Centre Universitaire de Mila.