

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE


Université **Mentouri**, Constantine
Faculté de biologie
Département de Biologie Végétale et Écologie

N° d'ordre :

N° de série :

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de magistère en **Biotechnologies
Végétales.**
(École Doctorale)

Thème

**Caractères physiologiques et biochimiques de
tolérance du blé dur (*Triticum durum Desf.*)
au stress hydrique.**

Présenté Par M^{elle} **MOUELLEF ADRA.**

Soutenue le : 04 juillet 2010,

devant le jury :

Président :	BAKA M.	Prof. Université Mentouri Constantine.
Rapporteur :	YKHLEF N.	Prof. Université Mentouri Constantine.
Examineurs :	BOUDOUR L.	M.C à l'Université Mentouri Constantine.
	SENOUSSI M.M.	Prof. à l'Université de Oum El Bouaghi.

Année universitaire 2010.

Dédicace

Je dédie ce travail à :

Ma mère Khadoudja.

Mon père Khoudir.

Mon grand père Amar.

*Mes frères ; Zouhîer, Hamza et Mohamed El
Ghazali.*

Mes sœurs ; Houda, Faiza et Sonia.

Toute ma famille.

Ma voisine Monira.

Toutes mes amies.

Adra

Remerciements

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

Je voudrais remercier du fond du cœur **M^{elle}** le Professeur **Ykhlef. N** qui a encadré cette étude au quotidien. Elle fut toujours présente, en particulier lorsque je me suis confrontée au doute, je lui suis reconnaissante pour : sa grande disponibilité, son ouverture d'esprit, son dynamisme et son optimisme, ainsi que pour ses multiples et précieux conseils scientifiques, professionnels ou tout simplement humains.

J'adresse tous mes remerciements au Professeur **Djekoun A.**, responsable de l'équipe de Biotechnologie et Amélioration des Plantes, au laboratoire GBBV, qui a accepté de m'accueillir au sein de son équipe, qu'il trouve ici toute ma gratitude pour tous ses conseils et ses orientations pertinentes de cette thèse.

Je tiens à remercier les membres du jury:

Au président du jury, Professeur **Baka M.**, Chef département de Biologie Végétale et Écologie de l'Université **Mentouri** de Constantine, Qui m'a fait l'honneur de présider ce jury.

À Madame **Boudour L.**, Maître de conférence à l'Université **Mentouri** Constantine, de m'avoir honoré en acceptant de faire partie de ce juré. Veuillez trouver ici mes remerciements les plus sincères.

À Monsieur **Senoussi M. M.**, Professeur à l'Université d'Oum El **Bouaghi**, pour l'honneur que vous m'avez fait d'accepter de juger ce travail. Veuillez agréer l'expression de ma reconnaissance et de mes remerciements les plus sincères.

Pour la réalisation de ce travail, je voudrais remercier **M^{me} Bousbaa R.**, Maître assistant à l'Université **Mentouri** Constantine, pour son aide, de m'avoir apporté ses conseils. Pour sa participation active dans mon travail.

Monsieur **Bel Bakri M^{ed}. N**, je vous remercie pour votre patience, votre gentillesse, votre disponibilité, vos conseils et votre accueil très chaleureux de m'avoir guidée au laboratoire.

Je voudrais remercier l'ensemble des personnes, qui m'ont aidé, de près ou de loin, à réaliser ce travail. Surtout **Mr Kallou K, M^{elle} Chaïb G**, Mahmoud, Fathia, Nadjoua.

Je tiens à remercier très spécialement **M^{me} Tourki.M.**, merci pour vos conseils, vos encouragements, votre joie et humour qui nous ont aidés à surmonter fatigue et découragement.

Je voudrais remercier **M^{me} Benlazar** enseignante au lycée **EL HOURIA**, pour son soutien chaleureux et sa correction.

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

Caractères physiologiques et biochimiques de tolérance du blé dur (*Triticum durum Desf*) au stress hydrique.

Résumé :

L'objectif de ce travail est d'étudier l'effet de stress hydrique et la variabilité de la réponse chez sept génotypes de blé dur (*Triticum durum Desf*) : Djenah khetaifa, Bidi 17, Guem goum Rkham, Rahouia, Beliouni, Vitron et Waha.

Dans la première partie, on a étudié différents paramètres morphologiques, physiologiques et biochimiques sous cinq niveaux d'irrigation (100, 80, 50, 25 et 12.5% de capacité au champ), le choix des niveaux d'irrigation est appliqué au stade 3^{ème} feuille. Les résultats obtenus montrent que le stress hydrique a entraîné une réduction de la surface foliaire, une diminution de la teneur relative en eau, du taux de la déperdition d'eau et du taux de la chlorophylle totale. De même, une augmentation du poids spécifique foliaire, de la résistance stomatique et une accumulation de la proline et des sucres solubles sont enregistrées.

Dans la deuxième partie, on a analysé par SDS-PAGE les protéines totales foliaires et racinaires exprimées chez les mêmes génotypes après un stress hydrique appliqué *in vitro* par ajout de PEG 600 à 7%. Les diagrammes électrophorétiques, nous donnent des sous unités présentes aussi bien chez les témoins que chez les stressées, alors que d'autres sont présentes /ou absentes chez les stressées et les témoins.

En conclusion, l'étude a montré que le stress hydrique provoque les mêmes mécanismes de la réponse chez les sept génotypes mais à des degrés différents.

Mots clés : Stress hydrique, tolérance, blé dur, morphologie, physiologie et biochimie, la culture *in vitro*, PEG, électrophorèse SDS-PAGE.

Physiological and Biochemical Characteristics of tolerance for durum wheat (*Triticum durum Desf*) to water stress.

Abstract:

The objective of this work is to study the effect of water stress, and variability of response in seven genotypes of durum wheat (*Triticum durum Desf*): Djenah khetaifa, Bidi 17, Guem goum Rkham, Rahouia, Beliouni, Vitron and Waha.

In the first part, we studied various morphological parameters, biochemical and physiological under five irrigation levels (100, 80, 50, 25 and 12.5% of field capacity); the choice of levels of irrigation is to apply at third leaf. The results show that water stress caused a reduction in leaf area, decreased water content, rate of water loss and the rate of total chlorophyll. Similarly, increased specific leaf weight, stomatal resistance and accumulation of prolin and soluble sugars are stored.

In the second part, were analyzed by SDS-PAGE total protein expressed in leaf and root the same genotypes after water stress applied *in vitro* by addition of PEG 600 to 7%. The electrophoresis diagrams, we give these subunits both in controls than in stress, while others are present or absent in stressed and witnesses.

In conclusion, the study showed that water stress causes the same response mechanisms among seven genotypes but to different degrees.

Key words:

Water stress, tolerance, durum wheat, morphology, physiology and biochemistry, *in vitro* culture, PEG, SDS-PAGE electrophoresis.

الخصائص الفسيولوجية و البيوكيميائية لتأقلم نبات القمح الصلب (*Triticum durum Desf*) مع الإجهاد المائي.

الملخص:

الهدف من هذا العمل هو دراسة تأثير الإجهاد المائي وتنوع الاستجابة عند سبعة أصناف من القمح الصلب (*Triticum durum Desf*) : جناح خطافية , بيدي 17 , قمقوم الرخم ، رحوية , بليونى, فيترون و واحة .

في الجزء الأول، قمنا بدراسة مختلف المعايير المورفولوجية، الفسيولوجية والبيوكيميائية تحت خمس مستويات من الري (100 ، 80 ، 50 ، 25 و 12.5 ٪ من السعة الحقلية) ، و التي تم تطبيقها على الورقة الثالثة. تبين النتائج المتحصل عليها أن الإجهاد المائي تسبب في تقلص المساحة الورقية ، انخفاض محتوى الماء النسبي للأوراق ، نقص في كل من معدل فقدان الماء و محتوى الكلوروفيل الكلي. كما سجلت بالمثل ارتفاع في المقاومة الثغرية للأوراق مع تراكم كل من البرولين والسكريات الذائبة.

في الجزء الثاني، تم تحليل البروتينات الكلية لأوراق وجذور نفس أصناف القمح باستعمال ، تقنية الهجرة ذو SDS- PAGE و ذلك بعد تعريضها لإجهاد مائي في الأنابيب (*in vitro*) بإضافة عنصر PEG 600 تركيز 7 ٪ إلى وسط الزرع ، بينت الرسوم الهندسية للهجرة الكهربائية وجود تحت وحدات مشتركة بين الشاهد و المعامل بالجفاف، في حين بعض الآخر يكون حاضراً أو غائباً عند كل منهما.

ختاماً، أظهرت الدراسة أنه بوجود الإجهاد المائي تستجيب أصناف القمح الصلب المدروسة بنفس الآليات و لكن بدرجات مختلفة.

الكلمات المفتاحية:

الإجهاد المائي، المقاومة، القمح الصلب، مرفولوجيا، فيزيولوجيا ، بيوكيميا ، الزراعة في الأنابيب ، PEG 600 ، الهجرة الكهربائية SDS-PEGA.

Abréviations

- APS** : persulfate d'ammonium.
B17 : Bidi 17.
BBP : bleu de bromophénol.
BEL : Beliouni.
BSA : bovine sérum albumine = albumine de sérum de bœuf.
C % : "cross-linking", Bisacrylamide (g) / (Acrylamide+Bisacrylamide) (g) x100.
CC : la capacité au champ.
DK : Djenah khetaifa.
Do : densité optique.
DTT : dithiothréitol.
FAO : Food and Agriculture Organization.
GGR : Guem Goum Rkham.
h : heure.
ITGC : Institut Technique des Grandes Cultures.
J : jours.
KDa : kilo dalton.
m².s/mol : mètre au carrée .second / mol.
mA : milliampère.
mn : minute.
MPa : megapascal.
MS : milieu de culture de Murashige et Skoog.
nm : nanomètre.
PEG : polyéthylène glycol.
PM : poids moléculaire.
PSF : Le poids spécifique foliaire.
PSII : photosystème II.
qsp : quantité suffisante pour.
RAH :Rahouia.
rpm : rotation par minute.
Rs : Résistance stomatique.
s : stressés.
SDS-PAGE : Sodium Dodécylsulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis.
sec : seconde.
SF : Surface foliaire.
SPAD : développements pour l'analyse du sol et des plantes.
T : témoin.
T % : «concentration totale » Acrylamide + Bisacrylamide (g)/Total x 100.
TCA : acide trichloroacétique.
TCT : taux de chlorophylle totale.
TDE : Taux de déperdition d'eau.
TEMED : tétraméthyl-éthylène-diamine.
TRE : teneur relative en eau.
Tris : tris-hydroxyméthyl-aminométhane.
Vit : Vitron.
W : Waha.
Φ_{PSII} : le rendement quantique du PSII.

Liste des figures

Fig. 01: Morphologie des graminées (exemple du blé)	05
Fig. 02: Phylogénie de blé	07
Fig. 03: Les marchés mondiaux de blé source USDA	08
Fig. 04: Courbe étalon du dosage de la proline	27
Fig. 05: Courbe étalon du dosage des sucres solubles.....	28
Fig. 06: Variation de la pression osmotique en fonction de la concentration du milieu en PEG 600(%).....	32
Fig. 07: L'évaluation de la surface foliaire des sept génotypes de blé dur soumis aux différents niveaux de stress hydrique	37
Fig. 08: Variation du poids spécifique foliaire des sept génotypes de blé dur soumis aux différents niveaux de stress hydrique.....	40
Fig. 09: Variation de la teneur relative en eau des sept génotypes de blé dur soumis aux différents niveaux de stress hydrique.....	43
Fig. 10: Variation du taux de déperdition d'eau des sept génotypes de blé dur soumis aux différents niveaux de stress hydrique	45
Fig. 11: Variation de la résistance stomatique des sept génotypes de blé dur soumis aux différents niveaux de stress hydrique.....	47
Fig. 12: Variation du taux de la chlorophylle totale des sept génotypes de blé dur soumis aux différents niveaux de stress hydrique.....	49
Fig. 13: Variation du rendement quantique du PSII des sept génotypes de blé dur soumis aux différents niveaux de stress hydrique.....	52
Fig. 14: L'évaluation de la teneur en proline des sept génotypes de blé dur soumis aux différents niveaux de stress hydrique.....	55
Fig. 15: L'évaluation de la teneur en sucres solubles des sept génotypes de blé dur soumis aux différents niveaux de stress hydrique	57
Fig. 16: Profil électrophorétique SDS-PAGE des protéines totales des racines des sept génotypes du blé dur soumis à un stress hydrique.....	62
Fig. 17: Dendrogramme d'après les profils électrophorétiques des racines des sept génotypes du blé dur soumis à un stress hydrique.....	65
Fig. 18: Profil électrophorétique SDS-PAGE des protéines totales des feuilles des sept génotypes du blé dur soumis à un stress hydrique	67
Fig. 19: Dendrogramme d'après les profils électrophorétiques des feuilles des sept génotypes du blé dur soumis à un stress hydrique	69

Liste des planches

Planche. 01	30
Planche. 02	59
Planche. 03	60

Liste des tableaux

Tab. 01: Les géotypes étudiés et leurs origines	23
Tab. 02: Différentes concentrations de PEG et leur pression osmotique.....	32
Tab. 03: Les Moyennes des variables des paramètres morphologiques et leurs groupes homogènes	36
Tab. 04: Les Moyennes des variables des paramètres physiologiques et leurs groupes homogènes	41
Tab. 05: Les Moyennes des variables des paramètres biochimiques et leurs groupes homogènes	53
Tab. 06: Diagramme présence absence des bandes dans les racines des sept géotypes de blé dur soumis à un stress hydrique	63
Tab. 07: Diagramme présence absence des bandes dans les feuilles des sept géotypes de blé dur soumis à un stress hydrique	66

Liste des annexes

Annexe. 01 : Taxonomie et classification des <i>Triticum</i>	84
Annexe. 02 : Milieu de culture (Murashige et Skoog)	85
Annexe. 03 : Solution de l'extraction des protéines totales	86
Annexe. 04 : Solutions et tampons utilisés pour SDS-PAGE	87
Annexe. 05 : Préparation des gels	89
Annexe. 06 : Tableaux d'analyse de variance à deux facteurs fixes (AV_2) Des paramètres étudiés	90
Annexe. 07 : Matrice des coefficients de corrélation des différentes Variables analysées	92

Sommaire

Sommaire

Introduction	01
--------------------	----

CHAPITRE I : Revues bibliographiques

1. Le blé dur	04
1. 1. Description générale de la plante	04
1. 2. Répartition géographique du blé dur et origine génétique	06
1. 3. Importance et production du blé dans le monde et en Algérie	08
2. Effet du stress hydrique sur le développement des plantes	09
2. 1. L'eau dans la plante	09
2. 2. Notion de stress	10
2. 3. Le stress hydrique	10
2. 4. Influence du stress hydrique sur le rendement du blé dur	11
3. Mécanisme d'adaptation des plantes au stress hydrique	12
3. 1. Adaptation phénologique	12
3. 2. Adaptation morphologique	13
3. 2. 1. Au niveau de la plante	13
3. 2. 2. Au niveau structurel	13
3. 3. Adaptation physiologique	14
3. 3. 1. La capacité photosynthétique	14
3. 3. 2. La teneur en chlorophylle	15
3. 3. 3. La régulation stomatique.....	15
3. 3. 4. Ajustement osmotique	16
4. Mécanisme d'adaptation biochimique en condition de stress hydrique	17
4. 1. Accumulation de la proline en condition de stress hydrique	17
4. 2. Rôles des sucres solubles	18
4. 3. Synthèse des protéines liées à la tolérance au stress hydrique	19
4. 3. 1. Dehydrines (Protéines LEA)	19
4. 3. 2. Les aquaporines	20
4. 4. Gènes variés au cours du stress hydrique.....	21

CHAPITRE II : Matériel et méthodes

1. Matériel végétal	23
2. Conduite et organisation des essais	23
3. Expérimentation 01 : (Étude de stress hydrique sous serre)	23
3.1. Préparation des pots et le semi	23
3.2. Détermination et application des niveaux de stress	24
3.3. Les paramètres étudiés	24
3.3.1. Paramètres morphologiques	24
3.3.1.1. La surface foliaire (SF « cm ² »).....	24
3.3.1.2. Le poids spécifique foliaire (PSF «mg/cm ² »)	25
3.3.2. Paramètres physiologiques	25
3.3.2.1. La teneur relative en eau (TRE « % »).....	25
3.3.2.2. Taux de déperdition d'eau (TDE « g.10 ³ /cm ² /mn »)	25
3.3.2.3. Mesure de la résistance stomatique (Rs « m ² .s/mol »).....	26
3.3.2.4. Mesure du taux de la chlorophylle totale (TCT « unité de SPAD »)	26
3.3.2.5. Mesure du rendement quantique du PSII (Φ_{PSII})	26
3.3.3. Paramètres biochimiques	27
3.3.3.1. Dosage de la proline (Prol « µg/100mg MF »).....	27
3.3.3.2. Dosage des sucres solubles (Suc« µg/100mg MF »).....	28
3.4. Traitement et analyse statistique.....	29
4. Expérimentation 02 : (Étude de stress hydrique <i>in vitro</i>)	31
4.1. Matériel végétal et conditions de culture.....	31
4.2. Détermination des niveaux du stress hydrique.....	32
4.3. L'analyse des protéines totales par SDS-PAGE	33
4.3.1. Extraction des protéines totales.....	33
4.3.2. Dépôt des échantillons et migration.....	34
4.3.3. Révélation des gels	35
4.4. Exploitation des résultats	35

CHAPITRE III : Résultats et discussion

1. Expérimentation 01 (Étude de stress hydrique sous serre).....	36
1.1. Variation des paramètres morphologiques	36
1.1.1. Variation de la surface foliaire (cm ²)	36
1.1.2. Variation du poids spécifique foliaire(mg/cm ²)	38
1.2. Variation des paramètres physiologiques	40
1.2.1. Variation de la teneur relative en eau (%)	42
1.2.2. Variation du taux de la déperdition d'eau (g.10 ³ /cm ² /mn)	44
1.2.3. Variation de la résistance stomatique (m ² .s/mol)	46

1.2.4. Variation du taux de la chlorophylle totale (unité de SPAD)	48
1.2.5. Variation du rendement quantique du PSII (Φ_{PSII})	50
1.3. Variation des paramètres biochimiques	53
1.3.1. Variation de la teneur en proline ($\mu\text{g}/100\text{mg MF}$).....	53
1.3.2. Variation de la teneur en sucres solubles ($\mu\text{g}/100\text{mg MF}$).....	55
2. Expérimentation 02 (étude de stress hydrique <i>in vitro</i>)	58
2.1. Variation de la croissance <i>in vitro</i>	58
2.2. Effet du stress sur la synthèse des protéines totales	61
2.2.1. Effet du stress sur les protéines des racines	61
2.2.2. Effet du stress sur les protéines des feuilles	65
 Conclusion et Perspectives	 71
 Références Bibliographiques.	 73
 Annexes	 84

Introduction

Introduction

Les céréales occupent à l'échelle mondiale une place primordiale dans le système agricole. Les céréales sont considérées comme une principale source de la nutrition humaine et animale (Slama et *al.*, 2005), selon FAO, (2007) leur production arrive jusqu'à 2001.5 Mt.

Parmi ces céréales, Le blé occupe la première place pour la production mondiale et la deuxième après le riz, comme source de nourriture pour les populations humaines, il assure 15% de ses besoins énergétiques (Bajji, 1999).

Le blé est une céréale importante en terme de consommation intérieure dans de nombreux pays du monde. Il sert principalement à la fabrication de semoule, matière première des pâtes alimentaires (Feillet, 2000). Sur la scène mondiale, la superficie moyenne consacrée annuellement à la culture du blé dur s'étend sur environ 18 millions d'hectares, ce qui donne une production annuelle moyenne approximative de 30 millions de tonnes métriques (Anonyme, 2002).

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

L'Algérie avant les années 1830, exporte son blé au Monde entier. Actuellement l'Algérie importe son blé et se trouve dépendante du marché international (Anonyme a, 2006). Par sa position de grand importateur de blé, l'Algérie achète annuellement plus de 5% de la production céréalière mondiale, cette situation risque de se prolonger à plusieurs années, faute de rendements insuffisants et des besoins de consommation sans cesse croissants devant une forte évolution démographique (Chellali, 2007). En effet une production très insuffisante de 2.7 Mt pour couvrir les besoins du marché national et alimenter les stocks pousse à faire un recours systématique aux importations (FAO, 2007).

Cette faiblesse de la production de blé en Algérie était toujours liée aux effets du stress hydrique qui se fait ressentir de manière très importante depuis la dernière décennie (Chaise et *al.*, 2005).

La capacité d'évaluer quantitativement les performances des plantes cultivées subissant un stress hydrique est très importante au niveau des programmes de recherche qui visent la réhabilitation et l'amélioration de la production en région semi aride (INRA, 2000).

La plupart des travaux effectués sur le blé dur dans le cadre de l'amélioration génétique de la tolérance au stress hydrique, se sont donnés pendant longtemps pour objectif primordial l'augmentation de la productivité, une approche basée sur les performances agronomiques. Actuellement, les programmes d'amélioration du blé s'intéressent de plus à l'amélioration génétique de la tolérance au stress hydrique. Cette amélioration exige d'étudier, d'identifier et de vérifier les caractères phénologiques, morpho physiologiques et biochimiques liés au rendement en condition de stress hydrique (Pfeiffer et *al.*, 2000) . De même, l'étude génétique par la recherche de marqueurs moléculaires du mode de transmission et de l'héritabilité des caractères repérés, comme bons indicateurs de la tolérance au stress hydrique est nécessaire pour faciliter l'utilisation de ces caractères dans les programmes de sélection pour l'amélioration génétique (Pfeiffer et *al.*, 2000).

Pour répondre à cette préoccupation, Ce travail a pour objectif de comparer le comportement de sept variétés de blé dur sous stress hydrique, ceci par l'étude de quelques paramètres morphologiques, physiologiques et biochimiques.

Notre mémoire est présenté en trois chapitres :

Le chapitre I, est une synthèse bibliographique sur le blé dur, le stress hydrique et les mécanismes morpho physiologiques, biochimiques de la tolérance des plantes au stress hydrique.

Dans le chapitre II, nous verrons successivement la description du matériel végétal, des conditions de culture et les méthodes d'analyse utilisées dans ce travail. Nous avons mis

au point de deux expériences : La première expérimentation est faite *in vivo* (sous serre) sous quatre niveaux de stress hydrique et un témoin; Dans la deuxième expérimentation, nous nous sommes intéressés à l'effet du stress hydrique sous condition de culture *in vitro* par l'ajout de PEG 600 (-1MPa) au milieu MS, cette deuxième expérimentation est réalisée sur la synthèse des protéines totales au niveau des racines et des feuilles.

Le troisième (III) chapitre fait l'objet de la présentation des résultats obtenus dans ce travail et leur discussion.

Le mémoire est achevé, par une conclusion et des perspectives, suivies de la liste de références bibliographiques et des annexes.

CHAPITRE I: Revues bibliographiques

1. Le blé dur

1. 1. Description générale de la plante

Le blé dur (*Triticum turgidum* ssp. *durum*) est une plante annuelle de la classe de Monocotylédones de la famille des Graminées, de la tribu des Triticées et du genre *Triticum* (Annexe. 01) (Feillet, 2000). En termes de production commerciale et d'alimentation humaine, cette espèce est la deuxième plus importante du genre *Triticum* après le blé tendre. Leur famille comprend 600 genres et plus de 5000 espèces (Feillet, 2000).

Il s'agit d'une graminée annuelle de hauteur moyenne et dont le limbe des feuilles est aplati. L'inflorescence en épi terminal se compose de fleurs parfaites (Soltner, 1998). Le système racinaire comprend des racines séminales produites par la plantule durant la levée, ainsi que des racines adventives qui se forment plus tard à partir des noeuds à la base de la plante et constituent le système racinaire permanent (Bozzini, 1988). Le blé dur possède une tige cylindrique, dressée, habituellement creuse et subdivisée en entrenoeuds. Certaines variétés possèdent toutefois des tiges pleines. Le chaume (talles) se forme à partir de bourgeons axillaires aux noeuds à la base de la tige principale (Bozzini, 1988). Le nombre de brins dépend de la variété, des conditions de croissance et de la densité de plantation (Clark et al., 2002).

Comme pour d'autres graminées, les feuilles de blé dur se composent d'une base (gaine) entourant la tige, d'une partie terminale qui s'aligne avec les nervures parallèles et d'une extrémité pointue. Au point d'attache de la gaine de la feuille se trouve une membrane mince et transparente (ligule) comportant deux petits appendices latéraux (oreillettes) (Bozzini, 1988).

La tige principale et chaque brin portent une inflorescence en épi terminal. L'inflorescence du blé dur est un épi muni d'un rachis portant des épilletés séparés par de courts entrenoeuds (Soltner, 1998). Chaque épillet compte deux glumes (bractées) renfermant de deux à cinq fleurs distiques sur une rachéole. Chaque fleur parfaite est renfermée dans des structures semblables à des bractées, soit la glumelle inférieure (lemma ou lemme) et la glumelle supérieure (paléa). Chacune compte trois étamines à anthères biloculaires, ainsi qu'un pistil à deux styles à stigmates plumeux. À maturité, le grain de pollen fusiforme contient habituellement trois noyaux. Chaque fleur peut produire

un fruit à une seule graine, soit le caryopse (Bozzini, 1988). Chaque graine contient un large endosperme et un embryon aplati situé à l'apex de la graine et à proximité de la base de la fleur (Fig. 01) (Soltner, 1998).

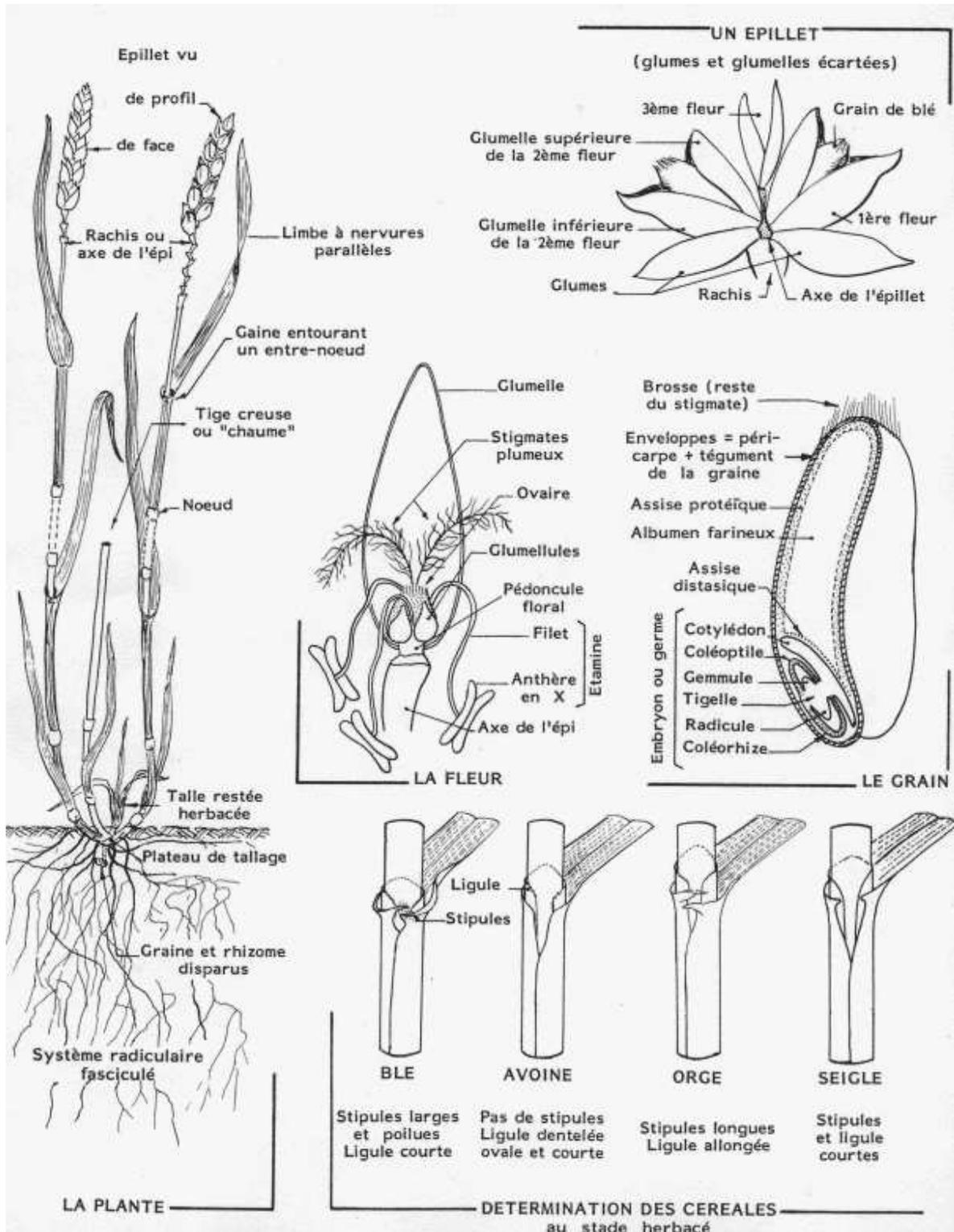


Fig. 01 : Morphologie des graminées (exemple du blé) (Soltner, 1998).

1. 2. Répartition géographique du blé dur et origine génétique

En ce qui concerne la localisation de la domestication de blé, on considérait jusqu'à aujourd'hui qu'elle avait eu lieu dans le Croissant fertile, vaste territoire comprenant, selon les auteurs, la vallée du Jourdain et des zones adjacentes de Palestine, de la Jordanie et de l'Iraq, voire de la bordure Ouest de l'Iran. Récemment, des scientifiques israéliens Lev-Yadun et *al.*, (2000) ont suggéré, sur la base de divers éléments botaniques, génétiques et archéologiques, que le creuset de notre céréaliculture se situerait en une zone plus limitée du-dit Croissant fertile, localisée autour de l'amont du Tigre et de l'Euphrate, dans des territoires actuels de la Syrie et de la Turquie. On croit que le blé dur provient des territoires actuels de la Turquie, de la Syrie, de l'Iraq et de l'Iran (Feldman, 2001).

Génétiquement, le blé dur est allotétraploïde (deux génomes: AABB), comptant au total 28 chromosomes ($2n = 4x = 28$), contenant le complément diploïde complet des chromosomes de chacune des espèces souches. Comme telle, chaque paire de chromosomes du génome (A) a une paire de chromosomes homologues dans le génome (B), à laquelle elle est étroitement apparentée (Wall et *al.*, 1971). Toutefois, durant la méiose, l'appariement des chromosomes est limité aux chromosomes homologues par l'activité génétique de gènes inhibiteurs (Wall et *al.*, 1971).

Les analyses cytologiques et moléculaires laissent croire que les sous-espèces de *Triticum turgidum* seraient issues de l'hybridation naturelle de *Triticum monococcum* L. subsp. *boeoticum* (Boiss) (synonyme : *Triticum urartu* : AA, 14 chromosome) avec une espèce de blé diploïde inconnue contenant le génome (B) (Feldman, 1976). Selon Kimber et Sears, (1987) une ou plusieurs des cinq espèces diploïdes de la section *Sitopsis* du genre *Triticum* pourraient avoir fourni le génome (B) aux blés polyploïdes. D'après l'analyse moléculaire, le génome de *Triticum speltoides* s'apparente plus au génome (B) du blé dur et du blé tendre (Talbert et *al.*, 1995). En outre, l'analyse de l'ADN des chloroplastes montre que *Triticum speltoides* est probablement le donneur maternel du blé dur (Wang et *al.*, 1997). Le résultat de cette hybridation naturelle est l'amidonnier sauvage (*Triticum turgidum* ssp. *dicoccoides* (Korn.) (Thell)), qui a été domestiqué plus tard sous la forme du blé amidonnier (*Triticum turgidum* ssp. *dicoccum* (Schrank) (Thell)), qui s'est répandu du Proche-Orient jusqu'aux grandes régions productrices de la Méditerranée et du Moyen-Orient, y compris en Égypte et en Éthiopie (Feillet, 2000).

Des milliers d'années de culture et de sélection ont abouti à la formidable variabilité de blé tétraploïde issu de l'amidonner sauvage. Un certain nombre de sous-espèces ont donc été caractérisées, principalement d'après les caractères morphologiques (Feldman, 2001):

Triticum turgidum ssp. *paleocolchicum*, *Triticum turgidum* ssp. *polonicum*, *Triticum turgidum* ssp. *turanicum*, *Triticum turgidum* ssp. *carthlicum*, *Triticum turgidum* ssp. *turgidum* et *Triticum turgidum* ssp. *durum*.

Parmi tous les blés tétraploïdes cultivés, *Triticum turgidum* ssp. *durum* est de loin le plus important (Feldman, 2001) (Fig. 02).

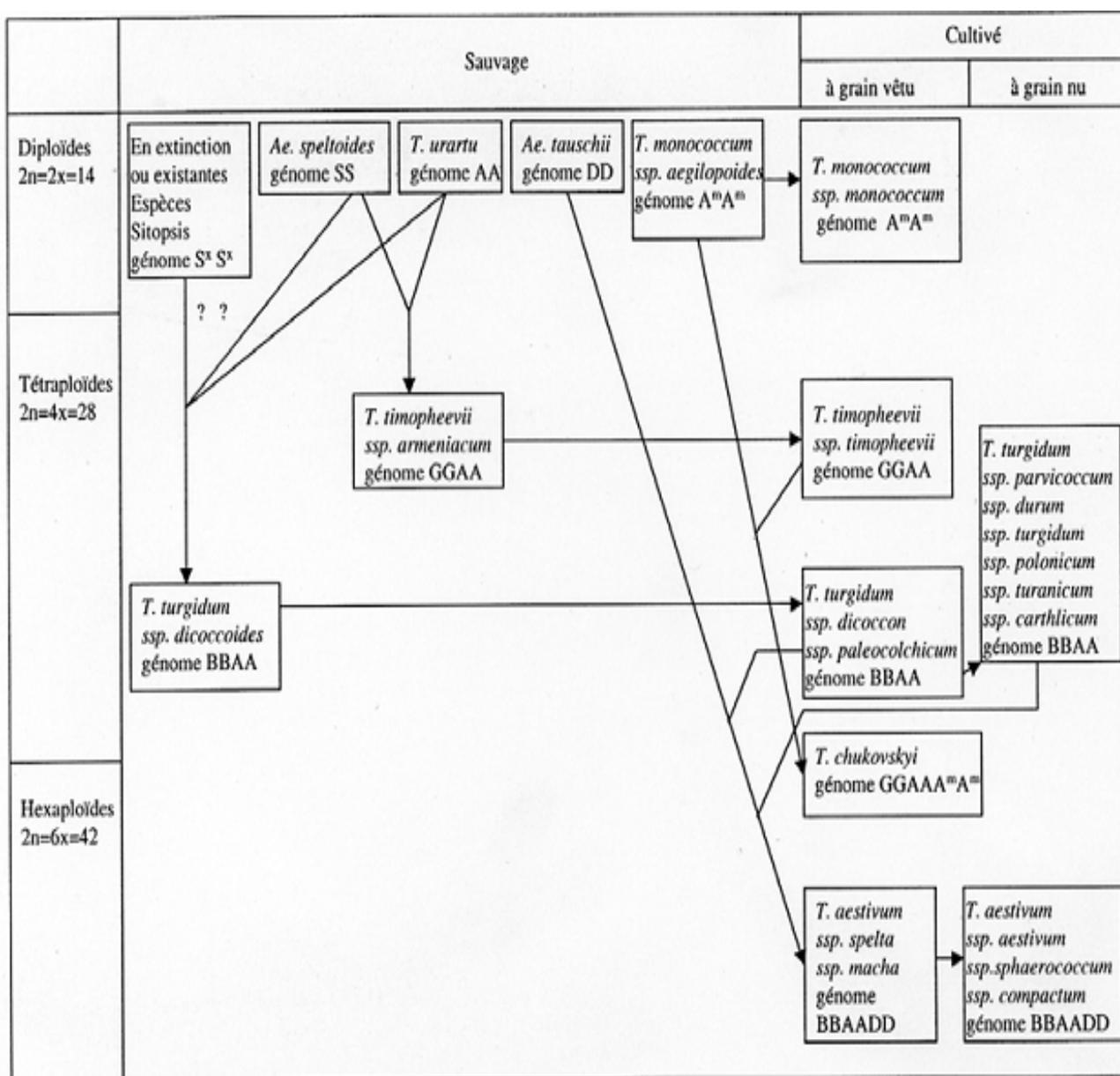


Fig. 02: Phylogénie de blé (Feldman, 2001).

1. 3. Importance et production du blé dans le monde et en Algérie

En botanique le blé dur une de la céréale la plus employée dans l'alimentation de l'homme et des animaux (Cheftel.J.C et Cheftel.H, 1992). Les grains de blé dur donnent de la semoule pendant la moture, cette semoule est valorisée dans la fabrication des pâtes alimentaires (Jeantet et *al.*, 2006). De plus en Afrique du Nord, on utilise aussi cette céréale pour la production de couscous et des pains traditionnels (la galette) (Feillet, 2000).

Dans le monde, l'Union européenne (principalement l'Italie, l'Espagne et la Grèce) est le plus grand producteur de blé dur, avec une récolte annuelle moyenne de huit millions de tonnes métriques. Le Canada arrive au deuxième rang avec 4,6 millions de tonnes métriques par année, suivi de la Turquie et des États-Unis, avec 4 et 3,5 millions de tonnes métriques respectivement (Anonyme, 2002). La campagne 2005/2006 est caractérisée par une consommation de 616 millions de tonnes alors que la production est estimée à 600 millions de tonnes, il en résulte une nouvelle baisse des stocks mondiaux qui passent à 136 millions de tonnes (Fig. 03) (Anonyme, 2006). Au cours des 10 dernières années la production mondiale de céréales (hors riz) a été inférieure à la demande à 8 reprises (Anonyme, 2006).

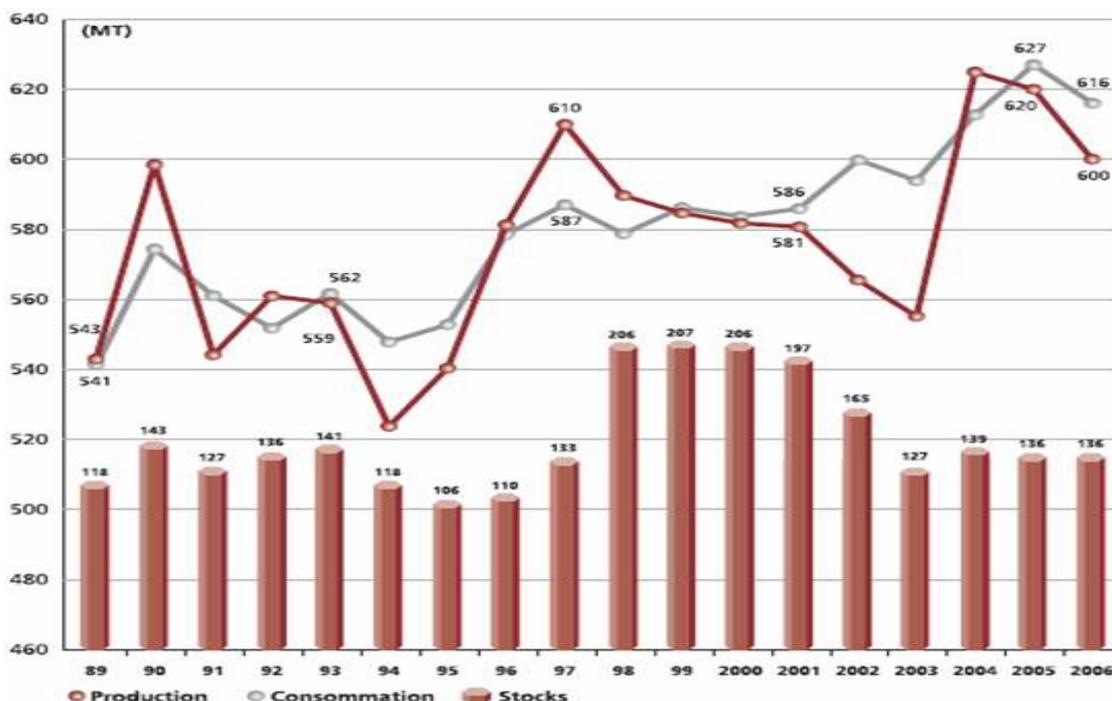


Fig. 03: Les marchés mondiaux de blé source USDA (Anonyme, 2006).

En Algérie, le blé dur (*Triticum durum Desf*), est la première céréale cultivée dans le pays. Elle occupe annuellement plus d'un million d'hectares. La production nationale en blé dur est encore faible, elle ne couvre que 20 à 25 % des besoins du pays, le reste étant importé (Anonyme, 2008). La cause principale de la faiblesse de la production du blé dur en Algérie est le faible niveau de productivité (rendement) obtenu, soit 9 à 11 quintaux/hectare (Chellali, 2007). Cette faible productivité est elle-même due à des contraintes abiotiques (pluviométrie surtout), biotiques (adventices, surtout) et humaines (itinéraires techniques appliqués etc...) (Chellali, 2007).

2. Effet du stress hydrique sur le développement des plantes

2.1 . L'eau dans la plante

Parler de l'eau chez les végétaux est quelque chose de commun. Chacun sait que pour se développer une plante a besoin d'eau et quand celle-ci vient à manquer les conséquences peuvent être graves (Bernard, 2006). Elle s'y trouve naturellement à l'état liquide, mais aussi sous forme de vapeur d'eau dans les chambres sous-stomatiques des feuilles (Laberche, 2004). La richesse en eau des plantes est variable selon les espèces, les organes et les milieux de vie. En effet, une salade peut contenir 90 à 93% d'eau, une feuille est composée souvent de 80 à 90% d'eau et le bois fraîchement coupé peut renfermer 30 à 50 % d'eau (Leclerc, 1999). Il faut 1 500 litres d'eau pour obtenir 1 Kg de blé, 500 litres d'eau pour 1 Kg de maïs et 4 500 litres d'eau pour 1 Kg de riz (Bernard, 2006).

Les rôles multiples assurés par l'eau au sein des plantes en font le premier facteur limitant leur fonctionnement. Parmi ces rôles, nous pouvons citer (Laberche, 2004):

- l'eau contribue au maintien de la structure de la cellule et en particulier de la structure colloïdale du cytoplasme.
- elle est le siège des réactions métaboliques.-elle intervient dans les réactions métaboliques comme l'hydrolyse ou la photosynthèse, elle est donc en ce sens un aliment pour le végétal.
- elle permet la turgescence des cellules et par là même des tissus et des organes.
- elle véhicule les nutriments minéraux et les produits du métabolisme.

- par son rejet dans l'atmosphère sous forme de vapeur, elle emprunte à la plante sa chaleur latente de vaporisation. Elle permet à celle-ci de supporter les rayonnements solaires et les divers échauffements climatiques.
- elle permet le déplacement des anthérozoïdes chez les Thallophytes, les Ptéridophytes, les Bryophytes et les Préspermaphytes.

2. 2. Notion de stress

Selon les définitions, le stress chez les plantes apparaît avec des significations différentes en biologie, qui convergent principalement en attribuant le stress à n'importe quel facteur environnemental défavorable pour une plante (Levitt, 1980). Tsimilli-Michael et *al.*, (1998) considèrent que le stress a une signification relative, avec un contrôle comme état de référence, ils considèrent le stress comme une déviation du contrôle à une contrainte. Selon Jones et *al.*, (1989) un stress désigne à la fois l'action d'un agent agresseur et les réactions qu'il entraîne dans l'organisme agressé, une force qui tend à inhiber les systèmes normaux. D'autre part, les stress environnementaux nés de la fluctuation des facteurs abiotiques (sécheresse, salinité, température) affectent les conditions de croissance, le développement et le rendement des plantes (Madhava Rao et *al.*, 2006).

2. 3. Le stress hydrique

Le stress hydrique est l'un des stress environnementaux les plus importants, affectant la productivité agricole autour du monde (Boyer, 1982). Il occupe et continuera d'occuper une très grande place dans les chroniques agro-économiques. C'est un problème sérieux dans beaucoup d'environnements arides et semi-arides, où les précipitations changent d'année en année et où les plantes sont soumises à des périodes plus ou moins longues de déficit hydrique (Boyer, 1982). Il existe de nombreuses définitions du stress hydrique. En agriculture, il est défini comme un déficit marqué et ce compte tenu des précipitations qui réduisent significativement les productions agricoles par rapport à la normale pour une région de grande étendue (Mckay, 1985 in Bootsma et *al.*, 1996). En effet, on assiste à un stress hydrique lorsque la demande en eau dépasse la quantité disponible pendant une certaine période ou lorsque sa mauvaise qualité en limite l'usage (Madhava Rao et *al.*, 2006). Le stress hydrique entraîne une dégradation des ressources d'eau douce en termes

de quantité (surexploitation des eaux souterraines, rivières asséchées, etc.) et de qualité (eutrophisation, pollution par la matière organique, intrusion saline, etc.) (Mouhouche et Boulassel, 1997).

Le stress hydrique peut se définir comme le rapport entre la quantité d'eau nécessaire à la croissance de la plante et la quantité d'eau disponible dans son environnement, sachant que la réserve d'eau utile pour la plante est la quantité d'eau du sol accessible par son système racinaire (Laberche, 2004). La demande en eau de la plante est quant à elle déterminée par le niveau de transpiration ou évapotranspiration, ce qui inclut les pertes d'eau tant au niveau des feuilles qu'au niveau du sol (Laberche, 2004). Le stress hydrique est toute restriction hydrique qui se traduit par une baisse de potentiel de la plante suite à une perturbation de son activité physiologique provoquée par un déficit de consommation en eau et communément appelé stress hydrique (Mouhouche et Boulassel, 1997).

2. 4. Influence du stress hydrique sur le rendement du blé dur

Un stress hydrique se traduit par une réduction de la croissance de la plante et de sa production par rapport au potentiel du génotype. Un stress hydrique précoce affecte en parallèle la croissance des racines et des parties aériennes, le développement des feuilles et des organes reproducteurs (Debaeke et *al.*, 1996).

Le rendement en grains chez le blé dépend fortement du nombre de grains par épi, du poids de grains par épi et du nombre d'épis par m² (Triboï, 1990). L'effet du déficit hydrique sur ces composantes et par conséquent sur le rendement, dépend du stade au cours duquel ce déficit survient (Debaeke et *al.*, 1996). Ainsi, un déficit hydrique à la montaison se traduit par la chute du nombre d'épis par m², la régression intense des tailles et la baisse du nombre de grains par épi (Debaeke et *al.*, 1996). À la fin de la montaison, 10 à 15 Jours avant l'épiaison, la sécheresse réduit le nombre de fleurs fertiles par épillet (Debaeke et *al.*, 1996). Le manque d'eau après la floraison, combiné à des températures élevées, entraîne une diminution du poids de 1000 grains par altération de la vitesse de remplissage des grains et de la durée de remplissage (Triboï, 1990). 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 (Gate et *al.*, 1993). Ainsi, le risque de stress hydrique est-il possible presque durant tout le cycle biologique de la

céréale. Par ailleurs et pour bien se développer, la plante doit disposer de mécanismes d'adaptation qui lui permettent de supporter le stress hydrique.

3. Mécanisme d'adaptation des plantes au stress hydrique

Pour lutter contre le manque d'eau, les plantes développent plusieurs stratégies adaptatives qui varient en fonction de l'espèce et des conditions du milieu (Esquive, évitement et tolérance) (Turner, 1986). La résistance d'une plante à une contrainte hydrique peut être définie, du point de vue physiologique, par sa capacité à survivre et à s'accroître et du point de vue agronomique, par l'obtention d'un rendement plus élevé que celui des plantes sensibles (Madhava Rao et *al.*, 2006). La résistance globale d'une plante au stress hydrique apparaît comme le résultat de nombreuses modifications phénologiques, anatomiques, morphologiques, physiologiques, biochimiques et moléculaires qui interagissent pour permettre le maintien de la croissance, du développement et de production (Hsissou, 1994).

3. 1. Adaptation phénologique

Pour éviter les périodes difficiles pour la croissance et le développement, certaines variétés accomplissent leur cycle de développement avant l'installation de stress hydrique. La précocité constitue donc un important mécanisme d'évitement au stress hydrique de fin de cycle (Ben Naceur et *al.*, 1999). Dans ces conditions, les paramètres phénologiques d'adaptation ou paramètres de précocité définissent le calage du cycle vis-à-vis des contraintes environnementales (Ben Naceur et *al.*, 1999). La précocité assure une meilleure efficacité de l'utilisation de l'eau. En effet, en produisant la biomasse la plus élevée, les génotypes à croissance rapide et à maturité précoce utilisent mieux l'eau disponible et ils sont moins exposés aux stress environnementaux que les génotypes tardifs (Bajji, 1999). Le rendement en grains est positivement corrélé à la précocité d'épiaison (Gonzalez et *al.*, 1999). En effet, les variétés qui ont une vitesse de croissance élevée ont la capacité de mieux utiliser les sources nutritives à la fin du cycle de développement lorsque celles-ci deviennent limitantes (Poorter, 1989). La précocité de l'épiaison peut donc être utilisée comme critère de sélection pour améliorer la production dans les zones sèches. C'est l'un des traits les plus importants dans l'adaptation des plantes au stress hydrique (Ben Salem et *al.*, 1997).

3. 2. Adaptation morphologique

L'effet du stress hydrique peut se traduire, selon la stratégie adaptative de chaque espèce ou génotype, par des modifications morphologiques pour augmenter l'absorption d'eau et pour diminuer la transpiration et la compétition entre les organes pour les assimilés. Ces modifications affectent la partie aérienne ou souterraine (Bajji, 1999).

3. 2. 1. Au niveau de la plante

La diminution de la surface foliaire des feuilles et du nombre de talles est considérée comme une réponse ou adaptation au manque d'eau (Blum, 1996).

Chez le blé, l'enroulement des feuilles chez certaines variétés peut être considéré comme un indicateur de perte de turgescence en même temps qu'un caractère d'évitement de la déshydratation, il entraîne une diminution de 40 à 60 % de la transpiration (Amokrane et *al.*, 2002). La longueur des barbes est un paramètre morphologique qui semble également étroitement lié à la tolérance au stress hydrique (Hadjichristodoulou, 1985). La hauteur de la plante apparaît comme un critère de sélection important particulièrement dans les zones arides, ceci s'expliquerait par le fait qu'une paille haute s'accompagne souvent d'un système racinaire profond ce qui conférerait à la plante une capacité d'extraction de l'eau supérieure (Bagga et *al.*, 1970). Les plantes à enracinement superficielle et peu dense souffrent plus du déficit hydrique que ceux à enracinement profond (El hassani et Persoons, 1994).

3. 2. 2. Au niveau structurel

Une des principales modifications structurelles, observée sur des plantes ayant subi un stress hydrique, concerne l'altération des propriétés physico-chimiques des parois cellulaires (Dixon et Paiva, 1995). Ces changements peuvent être induits par des modifications au niveau des enzymes impliquées dans la biosynthèse des monolignols ou dans leur assemblage dans la paroi. L'augmentation de l'expression de ces gènes peut être reliée à l'arrêt de la croissance et à l'épaississement de la paroi (Dixon et Paiva, 1995).

Un autre composant majeur de la paroi correspond aux composés issus de la polymérisation des sucres (cellulose et hémicellulose). Xu et *al.*, (1996) ont mis en évidence des modifications au niveau de l'hémicellulose via, notamment, la modulation de l'expression d'une famille multigénique appelée XET (xyloglucane endo-trans-glucanase).

Les XET effectuent des coupures internes dans les polymères de xyloglucanes, pour ensuite lier les fragments générés à d'autres chaînes de xyloglucanes (Xu et *al.*, 1996). Braam et *al.*, (1997) ont proposé l'idée qu'à l'instar des gènes impliqués dans la lignification, les XET pourraient intervenir dans l'altération des propriétés (exemple: extensibilité) de la paroi lors des stress abiotiques et notamment hydriques.

Des changements structuraux au niveau du cytosquelette peuvent également s'opérer. Creelman et Mullet, (1991) ont aussi mis en évidence une diminution de l'expression de deux gènes chez le soja, le premier codait pour une β -tubuline, une protéine impliquée dans les phénomènes de croissance cellulaire et le second codait pour l'actine, une protéine impliquée dans la structure du cytoplasme et dans l'orientation des organes.

3. 3. Adaptation physiologique

3. 3. 1. La capacité photosynthétique

La cinétique de la fluorescence chlorophyllienne est utilisée pour étudier les effets des stress abiotiques sur le rendement de la photosynthèse et principalement sur l'activité des photosystèmes PSII (Krause et Weis, 1991). Djekoun et Planchon, (1991) ont confirmé l'intérêt des mesures *in vivo* de la fluorescence chlorophyllienne pour l'étude de l'adaptation des plantes cultivées aux contraintes de l'environnement.

Les investigations basées sur des évaluations de la fluorescence chlorophyllienne ont prouvé que le PSII est tout à fait résistant au stress hydrique. Une grande partie du stress hydrique a été attribuée pour diriger les effets de la déshydratation sur les réactions biochimiques de la photosynthèse (Heitholt et *al.*, 1991). Pendant que les teneurs en eau des feuilles diminuent, une diminution d'efficacité photochimique de PSII et du transport d'électron se produit (Giardi et *al.*, 1996). Ceci peut être dû aux dommages des centres de réaction de PSII, mais peut également être provoqué par la diminution de la capacité de transport d'électron de PSII (Osmond, 1994). La majeure partie de la variation de l'utilisation d'énergie pour la photochimie pendant un stress hydrique peut être expliquée en termes de variation de l'efficacité de la capture d'électron par les centres ouverts de PSII (Cornic et Fresneau, 2002). Ykhlef et Djekoun, (2000) suggèrent que la survie des

plantes au manque d'eau est en partie dû à l'entretien de la capacité photosynthétique des feuilles, permettant le rétablissement rapide des plantes suite à une période de stress hydrique.

3. 3. 2. La teneur en chlorophylle

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

3. 3. 3. La régulation stomatique

La réduction de la perte en eau par la fermeture stomatique est un moyen d'adaptation des plantes au stress hydrique (Djekoun et Planchon, 1992). Cette diminution de la transpiration peut engendrer une réduction de la photosynthèse. Ainsi, les génotypes qui ont la capacité photosynthétique intrinsèque la moins affectée par le stress hydrique présentent une efficacité de l'utilisation de l'eau (photosynthèse/transpiration) plus élevée et une plus grande capacité de survie (Ykhlef, 2001).

L'augmentation du nombre de stomates par unité de surface pourrait être un des facteurs de résistance au stress hydrique chez les céréales si elle est accompagnée par une bonne activité physiologique (Slama, 2002). L'accroissement de la densité stomatique peut augmenter l'assimilation nette du CO₂ et diminuer la perte en eau. En effet, un nombre élevé de stomates peut engendrer des stomates de petite taille et à fermeture rapide (Djekoun et Ykhlef, 1996). Erchidi et *al.*, (2000) qui ont constaté que les variétés ayant

une conductance et une densité stomatique élevée sont plus résistantes au stress hydrique en donnant le rendement en grains le plus satisfaisant.

La régulation de l'état hydrique des parties aériennes de la plante par la fermeture des stomates est notamment déclenchée par un signal chimique racinaire, la molécule signal est une phytohormone, l'acide abscissique (ABA), synthétisé par les racines soumises à un stress hydrique et qui est véhiculé jusqu'aux feuilles par la sève brute (Djekoun et Ykhlef, 1996). Cette régulation diffère d'ailleurs selon les espèces, leur capacité à maintenir un état hydrique presque constant étant variable. Par exemple, elle est bonne chez le maïs et le pois et moins chez le tournesol. Si la fermeture des stomates permet à la plante de réduire la sortie d'eau, elle limite aussi l'entrée de CO₂ et donc la photosynthèse et la production de biomasse (Djekoun et Ykhlef, 1996). Selon Teare et Kanemasu, (1972) l'ouverture et la fermeture des stomates sont contrôlées par la turgescence de leurs cellules de garde. Cette dernière dépend de l'humidité du sol, de la température des feuilles, l'humidité de l'air, le rayonnement incident, le vent, la concentration en CO₂ de l'air et la chambre sous stomatique. La fermeture des stomates permet d'ajuster le débit transpiratoire au débit liquide (comme une vanne) et donc finalement l'absorption (à l'échelle journalière), elle freine ainsi la déshydratation. Turner, (1974) cité par Robelin, (1984) a mis en évidence que la résistance stomatique (ou son inverse la conductance) est reliée au potentiel hydrique total de la feuille et variable selon l'espèce.

3. 3. 4. Ajustement osmotique

Le stress hydrique provoque la mise en place d'un état de régulation hydrique de la plante qui se manifeste par la fermeture stomatique et par une régulation du potentiel osmotique (Brisson et Delecolle, 1992). L'ajustement osmotique est généralement considéré comme un élément important dans la tolérance des plantes au stress hydrique (Bajji et *al.*, 2001). Cet ajustement implique l'accumulation, au niveau cellulaire, des sucres, d'acides aminés (exemple : la proline), d'ions ou d'autres solutés compatibles (c'est-à-dire non toxiques) (Nouri et *al.*, 2002).

L'accumulation d'osmolites permet de créer un influx d'eau dans la cellule ou tout du moins d'éviter un flux, en augmentant la force de rétention des molécules d'eau (Crowe et *al.*, 1992). Le maintien de cette quantité d'eau permet ainsi de conserver la

turgescence nécessaire à la croissance des cellules. Il semblerait que cette accumulation d'osmolites soit reliée au maintien de l'intégrité des protéines et des membranes (Crowe et *al.*, 1992). Kumar et Dubey, (1999) ont par exemple montré que lors d'un stress hydrique l'accumulation d'osmolites semblerait aussi reliée à la protection des cellules contre les espèces activées de l'oxygène. Cependant, une augmentation d'osmolites n'est pas toujours reliée à une augmentation de la tolérance (Maggio et *al.*, 1997).

Chez la plupart des végétaux, les métabolites impliqués dans cet ajustement sont assez variés. Des études menées sur l'osmorégulation indiquent que les acides aminés libres peuvent jouer un rôle significatif dans ce processus (Tahri et *al.*, 1997). Parmi les acides aminés pouvant être accumulés, la proline représente l'une des manifestations les plus remarquables des stress. Les sucres aussi ont été considérés par plusieurs auteurs comme des bons osmorégulateurs qui peuvent jouer un rôle important dans l'ajustement osmotique et l'adaptation des plantes au stress hydrique (Cai et *al.*, 2007). Les composés inorganiques peuvent aussi avoir un effet dans la régulation osmotique et dans la tolérance au stress hydrique. Il semblerait même que ce type de molécule soit plus efficace que les composés organiques (Hare et Cress, 1997).

4. Mécanisme d'adaptation biochimique en condition de stress hydrique

4. 1. Accumulation de la proline en condition de stress hydrique

L'accumulation de la proline constitue aussi un véritable mécanisme de tolérance au stress hydrique (Slama et *al.*, 2004). L'existence chez les céréales d'une variation intra-spécifique pour l'accumulation de la proline sous l'effet du stress hydrique suggère la possibilité d'une sélection, sur la base de ce caractère, des génotypes qui auront une bonne capacité à survivre et un rendement en grains stable en conditions hydriques limitantes (Bergareche et *al.*, 1993). Pour cette raison, certains auteurs, Bellinger et *al.*, (1991) ont proposé l'accumulation de la proline comme technique de sélection. Tahri et *al.*, (1997) montrent que plusieurs sélectionneurs et physiologistes ont utilisé la capacité de son accumulation dans le criblage de génotypes résistants au déficit hydrique [(Benlarabi et Monneveux, (1988) sur le blé dur ; Bellinger et *al.*, (1989) sur le maïs)], au froid [(Dorfling et Askman (1989) sur le blé tendre)] et à la salinité [(Hubac et Vieira Da Silva (1980) chez *Artemisia herba alba*)].

L'origine de la proline accumulée sous stress n'est pas totalement éclaircie. Elle est soit synthétisée de nouveau à partir de l'acide glutamique (Glu) ou via l'ornithine (Orn), qui sont utilisés comme précurseurs (Samaras et *al.*, 1995). Les hydrates de carbone peuvent être des facteurs essentiels dans l'accumulation de la proline, car la synthèse des protéines est liée automatiquement au métabolisme des glucides et à la respiration (dans le cycle de Krebs) par l'intermédiaire l' α cétooglutarate qui forme le statut carbonique pour la synthèse de la proline (Venekamp et *al.*, (1988) in Chaib, 1998). L'addition de l'ornithine dans le milieu de culture augmente la source de la proline par l'intermédiaire de l'enzyme ornithine amino-transférase (Ledilly et *al.*, (1993) in Chaib, 1998). Savouré et *al.*, (1995) montrent chez *Arabidopsis* que l'augmentation de transcrits de la P5CR (Δ 1-pyrroline-5-carboxylate synthétase) est corrélée à une augmentation de proline. De plus, cet auteur a montré que cette augmentation était directement reliée à l'application du stress. En effet, lors de la phase de récupération juste après l'application du stress, le contenu en proline diminue en même temps que la quantité de transcrits correspondant à la P5CR (Δ 1-pyrroline-5-carboxylate synthétase). L'induction de ce gène est directement reliée à la régulation du taux de proline dans les cellules en fonction du stress. En effet, Ober et Sharp, (1994) mentionnent que l'ABA est nécessaire pour l'accumulation de la proline sous faible potentiel.

4. 2. Rôles des sucres solubles

Le potentiel osmotique peut être maintenu pour un stress hydrique de faible ou moyenne intensité, par ajustement osmotique. Les sucres peuvent servir de composés solubles compatibles pour cet ajustement osmotique, comme de nombreuses autres molécules (proline, glycine-bétaïne ou pinitol). D'après Bensari et *al.*, (1990) lorsque la contrainte hydrique cesse, la feuille reconstitue les réserves d'amidon et si une nouvelle contrainte hydrique intervient, le temps d'adaptation est plus court. En effet, Hare et Cress, (1997) remarquent que les sucres glucose, fructose et le saccharose représentent des osmotocums beaucoup moins puissants que la proline, ils participent eux aussi au maintien de la balance de la force osmotique. Par ailleurs, il a été observé que sous stress hydrique, les réserves amyliques sont progressivement utilisées suite à leur conversion rapide en saccharose qui pourra être associé à une inhibition de la synthèse de l'amidon

(Geigenberger et *al.*, 1997). Ainsi, les enzymes liés au métabolisme des sucres semblent avoir une importance majeure dans la tolérance au stress hydrique (Geigenberger et *al.*, 1997)

L'implication des sucres dans la tolérance au stress hydrique a été mise en évidence par les corrélations observées entre le contenu en certains sucres et l'acquisition de la tolérance (Déjardin et *al.*, 1999). De nombreuses études ont mis en évidence l'accumulation de sucres solubles lors de la dessiccation. Une idée principale en ressort différents sucres solubles peuvent être présents dans des tissus bien hydratés, mais le saccharose est préférentiellement accumulé dans les tissus en déshydratation (Déjardin et *al.*, 1999).

4. 3. Synthèse des protéines liées à la tolérance au stress hydrique

Les protéines de stress jouent un rôle dans l'adaptation de la plante et de ce fait de nombreux chercheurs abordent la résistance au stress par l'isolement et l'étude de ces molécules (Campalans et *al.*, 1999). Schulze et *al.*, (2005) ont écrit qu'une partie des protéines induites ont une fonction directe dans l'augmentation de la tolérance au stress (protéines fonctionnelles), d'autres ont une fonction dans la chaîne de transduction (protéines régulatrices) qui aboutiront à la production de protéines fonctionnelles. La plupart des protéines à fonction directe sont des aquaporines et des enzymes catalysant la biosynthèse d'osmolytes (carbohydrates et acides aminés).

4. 3. 1. Dehydrines (Protéines LEA)

Les Dehydrines, appelés aussi late embryogenesis abundant (LEA) D11 ou Rab protéines (Responsive to abscissic acid), ils constituent une famille multigénique dont la majeure partie des protéines est cytosolique et hydrophile (Dure, 1993). Les dehydrines, LEA forment un groupe remarquable de protéines induites par le stress hydrique et qu'on trouve chez toutes les plantes (Campbell et Close, 1997); elles n'ont pas de fonctions enzymatiques, mais elles sont très efficaces dans la protection de membrane cellulaire et des protéines par des structures quaternaires (Close, 1996). Ramanjulu et Bartels, (2002) ont proposé que ces protéines peuvent jouer un rôle en protégeant les structures cytoplasmiques pendant la déshydratation, découvertes en 1981, ces protéines protectrices

apparaissent toujours pendant la dessiccation de l'embryon et de l'endosperme lors de la maturation des graines. Elles sont très abondantes dans les embryons des graines tolérantes à la dessiccation et accumulées dans les périodes de stress hydrique (Campalans et al., 1999). Beaucoup d'entre elles sont synthétisées et accumulées pendant les périodes du stress hydrique et après stress osmotique dans tous les organes de la plante, elles ne contiennent ni de Cys (Cystéine) ni de Trp (Trepicine) et de ce fait elles résistent à la dénaturation thermique et à la dénaturation acide. Elles ont un poids moléculaire moyen qui varie entre 15 et 200 KDa (Ramanjulu et Bartels, 2002).

Les dehydrines et les enzymes catalysant la synthèse d'osmolytes compatibles sont d'un grand intérêt dans la transformation des plantes sensibles au stress hydrique. Xu et al., (1996) ont introduit dans le riz le gène HVA1 provenant de l'orge, le riz obtenu a été considérablement plus tolérant au stress hydrique et aussi au stress salin. De par leur forte concentration au sein des cellules des plantes stressées et de par leur composition en acides aminés, elles ne semblent pas avoir de fonction enzymatique. Ces protéines sembleraient entretenir des liaisons avec les molécules d'eau pour assurer une hydratation minimale au sein de la cellule (Ramanjulu et Bartels, 2002). En effet, McCubbin et Kay, (1985) ont montré que la protéine LEA 'Em' de blé tendre (*Triticum aestivum*) était considérablement plus hydratée que la plupart des protéines globulaires.

Un autre mode d'action a été proposé pour les LEA. En effet, lorsque les plantes subissent un stress violent, les composés cellulaires ont tendance à se cristalliser, provoquant de nombreux dommages au sein de la cellule. Ce phénomène peut être contre-carré par les LEA, qui peuvent agir comme des solutés compatibles pour augmenter la viscosité du milieu intracellulaire et ainsi éviter sa cristallisation (Ramanjulu et Bartels, 2002).

4. 3. 2. Les aquaporines

Les plantes équilibrent leur état hydrique en ajustant la conductibilité de l'eau de leurs tissus, les tissus vasculaires et les cellules de garde jouent un rôle important dans ce processus (Maurel et Chrispeels, 2001). Les aquaporines sont un composant significatif dans le transport cellulaire de l'eau. Elles peuvent réguler la conductivité hydraulique et

augmenter de 10 à 20 fois la perméabilité à l'eau des membranes (Maurel et Chrispeels, 2001). L'expression et l'activité des aquaporines sont modulées par la déshydratation. Smart et *al.*, (2001) ont montré que la répression de gènes d'aquaporines diminue la perméabilité à l'eau des membranes et peut conduire à la conservation cellulaire de l'eau pendant des périodes de contrainte hydrique. En revanche, il y a des exemples de gènes d'aquaporines, qui sont exprimés pendant le stress hydrique ayant pour résultat une plus grande perméabilité et une augmentation du flux de l'eau (Yamada et *al.*, 1997).

4. 4. Gènes variés au cours du stress hydrique

La tolérance au stress hydrique étant un phénomène complexe faisant intervenir de nombreux Gènes. L'analyse moléculaire de la réponse à la déshydratation est donc arrivée à un stade où de nombreuses séquences de gènes variant au cours du stress sont disponibles (Dubos, 2001). Il est maintenant indispensable de combiner les approches physiologiques, génétiques, biochimiques ainsi que les techniques de biologie moléculaire afin d'avoir une approche intégrée des phénomènes qui régissent la réponse au stress et de pouvoir identifier les gènes les plus fortement impliqués dans la tolérance (Dubos, 2001).

Les changements qui se produisent au niveau du métabolisme primaire de la plante font partie de la réponse générale au stress. En effet, de nombreux gènes qui varient au cours du stress hydrique varient de la même manière pour d'autres stress environnementaux (Deepika et Anil, 1999). Parmi les gènes qui varient au cours du stress, des gènes impliqués dans la photosynthèse. Ces gènes sont par exemple impliqués dans l'assimilation du CO₂ (la petite sous unité de la rubisco) ou dans la perception des photons (protéines Cab: Chlorophyll a/b) (Blomstedt et *al.*, 1998). Chez les Crassulacées, l'induction des gènes codants pour la phosphoénolpyruvate carboxylase montre l'importance du métabolisme CAM (Crassulacées Acide Métabolisme) dans la limitation des pertes en eau liées à l'assimilation du CO₂. Ce type de métabolisme correspond à une réponse majeure de nombreuses plantes pour survivre dans des conditions de milieu très sec (Cushman et Bohnert, 2000).

Le métabolisme azoté est lui aussi affecté par le stress hydrique. L'accumulation d'un transcrite codant pour une glutamine synthétase cytosolique (GS1) chez la tomate au cours du stress hydrique relié au remaniement des protéines foliaires suite à la fermeture



des stomates (Bauer et *al.*, 1997). Umeda et *al.*, (1994) ont étudié les variations des transcrits correspondant aux enzymes impliquées dans la formation de l'ATP chez des plants de riz soumis à un stress hydrique et ont montré une induction coordonnée de la transcription des gènes impliqués dans cette voie métabolique.



CHAPITRE II : Matériel et méthodes



1. Matériel végétal

L'étude a porté sur sept génotypes de blé dur (*Triticum durum Desf*) d'origine locale et introduite. Les génotypes utilisés sont répertoriés selon le catalogue officiel de l'ITGC (Tab. 01).

Tab. 01 : Les génotypes étudiés et leurs origines

Génotypes	Code	Origine
Djenah khetaifa	DK	Algérie (ITGC).
Bidi 17	B17	Algérie (Guelma1936).
Guem Goum Rkham	GGR	Algérie (Tiaret - Tébessa).
Rahouia	RAH	Algérie (ITGC/ Tiaret 1980).
Beliouni	BEL	Algérie.
Vitron	Vit	Espagne El khroub1986.
Waha	W	Syrie (ICARDA).

2. Conduite et organisation des essais

Deux expérimentations contrôlées ont été menées ; la première sous serre (*in vivo*) et la deuxième dans la chambre de culture (*in vitro*). Ces deux essais ont été réalisés au niveau du laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologies Végétales (GBBV) à Chaabet El Rasses, Université Mentouri, Constantine.

3. Expérimentation 01 : (Étude de stress hydrique sous serre)

3. 1. Préparation des pots et le semi

Les grains ont été mis en germination à l'obscurité, suite à laquelle le taux de germination a été relevé, les plantules sont transplantées ensuite dans des pots de 5 Kg. Les pots ont été remplis par un mélange de sol agricole de la pépinière de l'Université Mentouri de Constantine et du sable dans les proportions 2 :1. Les pots ainsi préparés sont répartis à raison de 15 pots /génotypes. Pour chaque génotype 5 traitements et 3 pots/traitements sont définis. Dans chaque pot 6 plantes ont été repiquées ainsi nous avons eu 18 Plants / traitements /génotypes (Photos. 01- planche.01).



3. 2. Détermination et application des niveaux de stress

Les pots ont été placés sous serre, ils sont irrigués régulièrement 2 fois par semaine jusqu'à l'obtention de la quatrième feuille, à ce stade le stress hydrique est appliqué par l'arrêt de l'irrigation jusqu'à l'obtention des différents niveaux de stress hydrique (80 %, 50 %, 25 % et 12.5% de la capacité au champs). Pour calculer ces niveaux d'irrigation (80%, 50%, 25% et 12.5%) par apport à la capacité au champ du pot, nous avons pesé des pots contenant 5Kg de substrat sec utilisé dans l'expérimentation, P1 (P1 = poids de sol sec). En suite nous avons irrigué ces derniers jusqu'à saturation, tout en couvrant les pots à l'aide d'un plastique noir pour éviter l'évaporation de l'eau par la surface. Après 24h de repos, les pots sont pesés de nouveau P2 (P2 = poids à saturation). La différence entre P2 et P1 est la quantité d'eau retenue par le sol et qui représente la capacité au champ des pots. On estime la capacité au champ (C.C) par l'équation suivante :

$$C.C = (P_2 - P_1) / P_1 \cdot 100$$

Ainsi cinq traitements sont retenus; le témoin (T), stress niveau 1 (N₁) a été maintenu à 80% de la CC, stress niveau 2 (N₂) a été maintenu à 50% de la CC, stress niveau 3 (N₃) a été maintenu à 25% de la CC et stress niveau 4 (N₄) a été maintenu à 12.5% de la CC.

3. 3. Les paramètres étudiés

3. 3. 1. Paramètres morphologiques

3. 3. 1. 1. La surface foliaire (SF « cm² »)

La surface foliaire qui concerne la troisième feuille, est déterminée par la méthode de Paul et *al.*, (1979) qui consiste à :

- prendre la feuille de blé dur sur papier calque et découper les contours de la feuille, ce dernier est pesé (Pf).
- couper un carré de 1cm (S(1cm²)) de coté de ce même papier qui est également pesé (P(1cm²)).
- déduire la surface foliaire SF par la formule suivante :

$$SF (cm^2) = Pf. S (1cm^2) / P (1cm^2)$$



3. 3. 1. 2. Le poids spécifique foliaire (PSF « mg/cm² »)

Les feuilles sont pesées immédiatement pour obtenir le poids frais (PF) puis avec les mêmes feuilles on détermine la surface foliaire (SF) selon la méthode de (Paul et *al.*, 1979). Le poids spécifique foliaire (PSF) est déterminé par la formule suivante (Araus et *al.*, 1998 in Zeghida et *al.*, 2004) :

$$\text{PSF}(\text{mg}/\text{cm}^2) = \text{PF} / \text{SF}$$

3. 3. 2. Paramètres physiologiques

3. 3. 2. 1. La teneur relative en eau (TRE « % »)

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

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

3. 3. 2. 2. Taux de déperdition d'eau (TDE « g.10³- /cm²/mn »)

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

$$\text{TDE} (\text{g}.10^3\text{-}/\text{cm}^2/\text{mn}) = [(\text{Pi} - \text{P2h}) / \text{PS}].[1/\text{SF}.120\text{mn}]$$



Avec : P_i : poids initial de la feuille ;

P_{2h} : poids de la feuille (trempée dans l'eau distillée 2h) ;

PS : poids sec de la feuille (48heure à 80C°) ;

SF : la surface foliaire de la feuille.

3. 3. 2. 3. Mesure de la résistance stomatique (R_s « $m^2.s/mol$ »)

La résistance stomatique au niveau des feuilles a été mesurée à l'aide d'un Poromètre type Delta Devices MK3 (Photos. 03- planche.01). En premier lieu, on fait l'étalonnage de l'appareil; puis on lance la lecture. Il s'agit d'insérer la partie médiane de la feuille dans la pince (Herbinger et *al.*, 2002). Les données de la résistance stomatique sont stockées dans l'appareil de mesure et ensuite transférées vers un ordinateur pour leur traitement.

3. 3. 2. 4. Mesure du taux de chlorophylle totale (TCT« unité de SPAD »)

Le taux de chlorophylle au niveau des feuilles a été mesuré à l'aide d'une chlorophylle mètre SPAD 502 de Minolta (Photos. 04- planche.01) (Nouri, 2002). L'appareil a la forme d'une pince que l'on tient dans la main ; il est compact et léger et entre dans n'importe quelle poche. Il mémorise jusqu'à 30 mesures, qui peuvent être affichées une à une. Les valeurs classiquement retrouvées se situent entre 0 et 50 (unités SPAD). Le chlorophylle mètre est utilisé pour évaluer la teneur en azote des feuilles puisque la majeure partie de l'azote est contenue dans la chlorophylle. Il suffit de fermer la pince vide sur elle-même pour étalonner l'instrument. Par la suite, trois prises de mesure sont effectuées au niveau de la feuille sur trois différents (sommet, milieu, et base). La moyenne des trois valeurs s'affiche sur l'écran à la fin (unité SPAD). Sachant que le temps de chaque mesure est de l'ordre de deux secondes.

3. 3. 2. 5. Mesure du rendement quantique du PSII (Φ_{PSII})

La fluorescence chlorophyllienne a été mesurée à l'aide d'un fluorimètre portatif modèle FMS, le Plant Efficiency Analyser (PEA) (Photos. 05- planche.01) permettant de mesurer la fluorescence avec une résolution de 10 sec. Les mesures sont effectuées sur les feuilles attachées. Les données sont stockées dans l'appareil de mesure et ensuite transférées vers un ordinateur pour leur traitement. La capacité de stockage de l'appareil



est de 82 mesures. La lecture s'effectue de manière à placer la feuille à l'obscurité, des clips sont positionnés au moins 30 mn avant la mesure. Il s'agit de pinces, dont la partie se trouvant en contact avec la face supérieure de la feuille comporte une fenêtre de lecture pouvant être obstruée au moyen d'une plaque métallique coulissante. L'unité de mesure du PEA vient se positionner sur le clip, la plaque métallique est tirée et la mesure peut être exécutée. Cet appareil consigne automatiquement des paramètres. Parmi ces paramètres, on s'est basé sur le paramètre Φ_{PSII} qui présente le rendement quantique du PSII (Louvieaux, 2007).

3. 3. 3. Paramètres biochimiques

Les paramètres biochimiques consistent à mesurer les quantités des constituants des organes biologiques en général sucres solubles ; protéines totales ; acides aminées ; proline ; lipides ...etc.

3. 3. 3. 1. Dosage de la proline (Prol « $\mu\text{g}/100\text{mg MF}$ »)

La proline ou acide pyrrolidine 2-carboxylique est l'un des vingt principaux acides aminés qui entrent dans la constitution des protéines. La proline est facilement oxydée par la ninhydrine ou tricetohydrindène. C'est sur cette réaction que se base le protocole de mise en évidence de la proline dans les échantillons foliaires (El Jaafari, 1993). La méthode suivie est celle de Trolls et Lindsley, (1955), simplifiée et mise au point par Rasio *et al.*, (1987).

Elle consiste à prendre 100 mg de matière fraîche dans des tubes à essai contenant 2 ml de méthanol à 40%. Le tout est chauffé à 85°C dans un bain-Marie pendant 60mn. (Les tubes sont recouverts de papier aluminium pendant le chauffage pour éviter la volatilisation de l'alcool.) Après refroidissement ; on prélève 1ml d'extrait auquel il faut ajouter :

- 1 ml d'acide acétique (CH_3COOH) ;
- 25 mg de ninhydrine ($\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_4$) ;
- 1 ml de mélange contenant :
 - 120 ml d'eau distillée ;
 - 300 ml d'acide acétique ;
 - 80 ml d'acide orthophosphorique (H_3PO_4 .d=1.7).

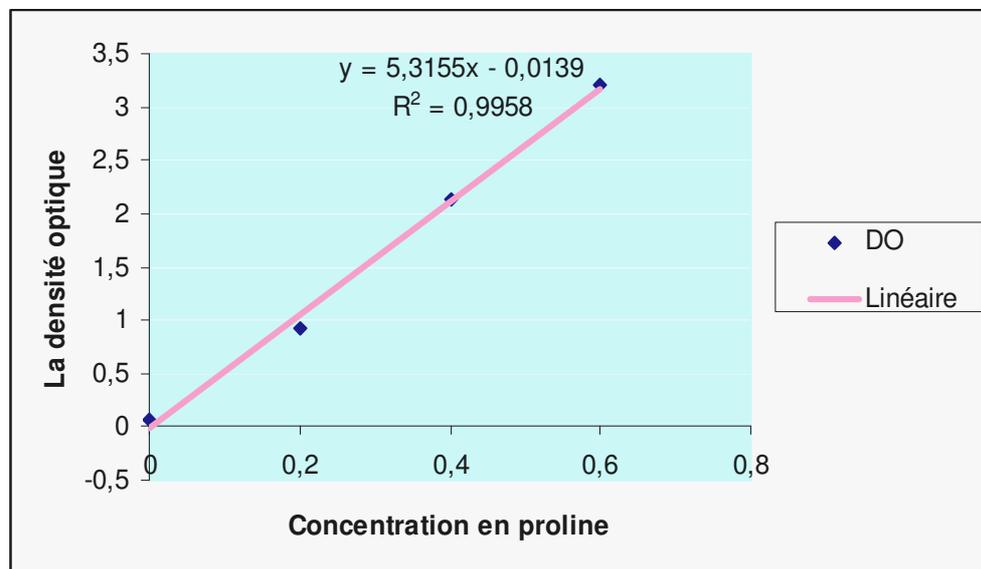


Fig. 04 : Courbe étalon du dosage de la proline.



La solution obtenue est portée à ébullition pendant 30 mn à 100°C, la solution vire au rouge, après refroidissement, 5 ml de toluène sont rajoutés à la solution qui est agitée, deux phases se séparent (une phase supérieure à la couleur rouge contient la proline et une phase inférieure transparente sans proline). Après avoir éliminé la phase inférieure, la phase supérieure est récupérée est déshydratée par l'ajout d'une spatule de Sulfate de Sodium Na_2SO_4 anhydre (pour éliminer l'eau qu'elle contient). On détermine la densité optique (Do) à l'aide d'un spectrophotomètre (type 20D) sur une longueur d'onde de 528nm. Les valeurs obtenues sont converties en taux de proline par le biais d'une « courbe étalon » (Fig. 04), préalablement établie à partir d'une série de solution de concentration en proline connue. Cette courbe est utilisée pour déterminer les teneurs en proline dans les feuilles des plantes.

3. 3. 3. 2. Dosage des sucres solubles (Suc) « $\mu\text{g}/100\text{mg MF}$ »

Les sucres solubles totaux (saccharose, glucose, fructose, leurs dérivés méthyles et les polysaccharides) sont dosés par la méthode au phénol de Dubois et *al.*, (1956). Elle consiste à prendre 100 mg de matière fraîche, placées dans des tubes à essais, on ajoute 3 ml d'éthanol à 80% pour faire l'extraction des sucres. On laisse à température ambiante pendant 48h à l'obscurité. Au moment du dosage les tubes sont placés dans l'étuve à 80°C pour faire évaporer l'alcool. Dans chaque tube on ajoute 20ml d'eau distillée à l'extrait. C'est la solution à analyser.

Dans des tubes à essais propres, on met 2ml de la solution à analyser, on ajoute 1ml de phénol à 5% (le phénol est dilué dans de l'eau distillée); on ajoute rapidement 5ml d'acide sulfurique concentré 96% tout en évitant de verser de l'acide contre les parois du tube. On obtient, une solution jaune orange à la surface, on passe au vortex pour homogénéiser la couleur de la solution. On laisse les tubes pendant 10mn et on les place au bain-Marie pour 10 à 20mn à une température de 30°C (La couleur de la réaction est stable pendant plusieurs heures.). Les mesures d'absorbances sont effectuées à une longueur d'ondes de 485 nm. Enfin des résultats des densités optiques sont rapportés sur une courbe étalon (Fig. 05) des sucres solubles (exprimés en glucose).

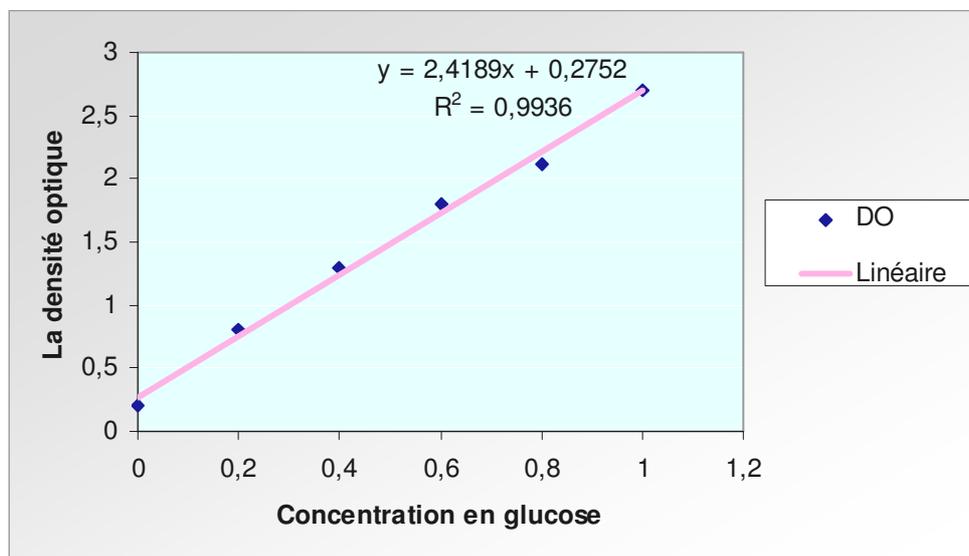


Fig. 05 : Courbe étalon du dosage des sucres solubles.



3. 4. Traitement et analyse statistique

Tous les essais de la première expérience (*In vivo*) ont été répétés au moins trois fois, concernant les mesures des paramètres morphologiques, physiologiques et biochimiques en relation avec la tolérance au stress hydrique. Les résultats, présentés sous forme d'histogrammes et des courbes, rejoignent le plus souvent des valeurs moyennes et leurs écartypes, ces deux derniers ont été réalisés par le logiciel *Excel 2003*. L'analyse de variance à deux facteurs (facteur variété, facteur traitement et leur interaction) a été réalisée par l'utilisation du logiciel spécifique «*MINITAB* version *13.31* pour Windows ». Les groupes homogènes ont été réalisés par le logiciel «*Excel STAT 2009* » en utilisant le test de *NEWMAN-KEULS*.



Planche.01



Photos. 01: Mise en place de la première deuxième expérience (sous serre).



Photos. 02 : Mise en place de la expérience (*in vitro*).



Photos. 03: Prise de mesures de la résistance stomatique à l'aide du Poromètre.



Photos. 04: Prise de mesures avec le Chlorophylle mètre SPAD 502.



Photos. 05: Prise de mesures de la fluorescence avec un fluorimètre.



4. Expérimentation 02 : (Étude de stress hydrique *in vitro*)

La deuxième expérience est réalisée sur milieu artificiel dans une chambre de culture (Photos. 02- planche.01), sous des conditions contrôlées avec une photopériode de 16 h et une intensité de 8000 lux et une température de 25°C.

4. 1. Matériel végétal et conditions de culture

La culture *in vitro* signifie littéralement, « la reproduction artificielle des cellules ou des tissus sur un milieu nutritif, dans un tube de verre et en conditions d'asepsie » (de Fossard, 1981 in Baziz, 2004). C'est un mode de reproduction artificielle qui comprend l'ensemble des méthodes faisant intervenir des éléments d'asepsie et la mise en place de conditions de culture contrôlées (milieu de culture, température, luminosité), le milieu doit fournir tous les éléments chimiques nécessaires au développement de la plante (Baziz, 2004).

Dans cette expérimentation nous avons retenu les mêmes génotypes utilisés dans l'expérimentation n°01. Les grains des sept génotypes ont été mis en culture *in vitro*. Pour cela, les grains ont été stérilisés dans une solution d'éthanol à 70% pendant 1mn puis dans une solution d'eau de javel (hypochlorite sodium) à 5% pendant 15 à 20mn, ensuite après rinçage trois fois avec de l'eau distillée stérile pendant 5mn, les grains sont maintenus dans l'eau distillée stérile jusqu'au repiquage dans les boites de Pétri.

Les graines sont mises à germer dans des boites de Pétri sur un milieu MS (Murashige et Skoog, 1962 in Anonyme, 1999) (Annexe.02), qui contient des macro-éléments, micro-éléments, fer, vitamines et de 30g de saccharose. Ce milieu est solidifié par l'agar 10g/l, le pH est ajusté à 5,6 avant autoclavage à 120°C et 15 psi pendant 20mn. Les boites de Pétri sont mises à l'obscurité avec une température ambiante de 25°C.

Après la pré-germination, les racines à 1cm de longueur sont repiquées sous la hotte dans des tubes de culture fermés avec des bouchons en plastique stérilisés à l'eau de javel (12°), toutes ces manipulations se font sous des conditions d'asepsie pour éviter les contaminations (Turhan et Baser, 2004).

La culture est suivie pendant 30 J. (La stérilisation des instruments métalliques est assurée par l'étuve à une température de 180°C pendant 30 min).



4. 2. Détermination des niveaux du stress hydrique

L'application du stress hydrique s'est faite par ajout d'un osmoticum à la solution du milieu MS. L'osmoticum utilisé est le polyéthylène glycol (PEG 600). Le PEG a été choisi pour modifier les conditions de culture en raison de la difficulté à obtenir une solidification de l'Agar. Le PEG abaisse le potentiel de l'eau dans le milieu. Afin de déterminer la concentration équivalente à -1MPa de PEG nous avons préparé quatre solutions de milieu MS avec différente concentration de PEG 0, 5, 10 et 20% successivement (Fig.06). L'osmolarité de ces concentrations est mesurée par un osmomètre (Wescor 5500, Logan, USA), la pression osmotique est calculée selon la formule suivante : $\Pi = RTc$ ($RT = 2.446 \text{ Kg.MPa.mol}^{-1}$ à 21°C ; $c = \text{osmolarité (mol.Kg}^{-1}\text{)}$) (Money, 1989) et les valeurs obtenues de chaque solution sont notées dans le tableau n°02.

Tab 02 : différentes concentrations de PEG et leur pression osmotique.

Concentration PEG (%)	0	5	10	20
Π (MPa)	0,56	0,84	1,27	2,72

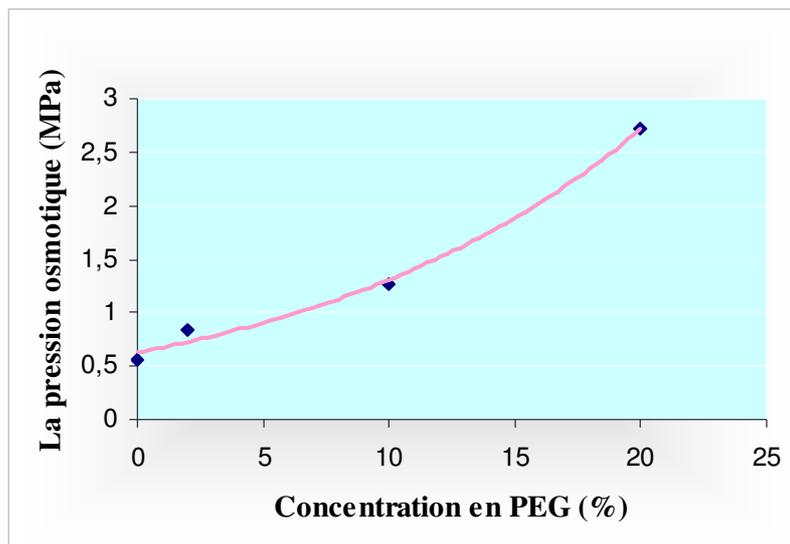


Fig. 06 : Variation de la pression osmotique en fonction de la concentration du milieu en PEG 600(%).

Les tubes répartis en deux lots : 1^{er} lot représente le milieu témoin et le 2^{ème} lot représente le milieu stressé (-1MPa).



4. 3. L'analyse des protéines totales par SDS-PAGE

Les protéines sont des molécules qui ont un rôle dans la structure et la fonction de la cellule, on peut les isoler, les analyser et les étudier. La séparation des protéines présente dans notre étude est faite à l'aide d'un gel SDS-PAGE permettant une séparation des protéines dans le gel selon leur poids moléculaire. La technique électrophorèse monodimensionnelle sur gel de polyacrylamide en présence de SDS est réalisée selon la méthode de Laemmli, (1970) citée par De Leonardis et *al.*, (2007). Une variante de cette technique consiste à utiliser du SDS (Sodium Dodécylsulfate) qui est un détergent anionique fort. Il a la propriété de défaire la structure spatiale en se fixant sur les protéines et de les charger de la même façon permettant ainsi de les séparer uniquement en fonction de leur masse moléculaire. Il donne la charge négative aux protéines (aux chaînes de polypeptides) qui permet la migration des protéines vers l'anode (Dicko, 2006).

Avant de procéder à la dénaturation des protéines avec du SDS, on utilise un agent réducteur, le β -mercaptoéthanol qui réduit les ponts désulfuriques des protéines, les rendant ainsi sous forme monomérique. Le β -mercaptoéthanol coupe et casse les liaisons et les ponts désulfuriques (on peut le remplacer par le DDT). L'acétone fait descendre les protéines au bas et solubilise les molécules organiques comme les acides gras ;...etc. Cette technique permet de déterminer le poids moléculaire des sous unités formant une protéine, et de se rendre compte du degré de purification atteint à chaque étape. Pour réaliser cette technique on utilise deux gels ; un gel de séparation et un gel de concentration possédant des concentrations d'acrylamide bien spécifiques suivant les besoins de la séparation. Dans nos expériences, pour le gel de séparation, une concentration finale d'acrylamide de 15 % a été choisie et une concentration de 4% pour le gel de concentration. Ce dernier permet à l'échantillon une entrée homogène dans le gel de séparation (Annexe. 05) (Jangpromma et *al.*, 2007).

4. 3. 1. Extraction des protéines totales

L'extraction des protéines totales des feuilles et des racines de blé dur se fait par la méthode (De Leonardis et *al.*, 2007) comme suit:



-Broyer à l'aide d'un mortier et d'un pilon 100mg de feuilles et de racines des échantillons témoins et stressés, pesé le jour même dans de l'azote liquide. Ce matériel végétale ainsi préparé peut être stocké à - 20°C (Zukas et Breksa, 2005).

-Ajouter au broyat 1ml de la solution de précipitation (solution A (Annexe.03)) et homogénéiser dans un tube Eppendorf de 1.5ml.

-Laisser reposer pendant 1h à - 20°C.

-Centrifuger pendant 15mn à 4°C et à 13 000 rpm.

-Éliminer le surnageant délicatement en renversant le tube (le culot ne doit pas décoller).

-Laver les culots avec 1ml de la solution de rinçage (solution B (Annexe.03)).

-Laisser reposer 1h à - 20°C puis éliminer le surnageant délicatement (on peut faire une petite centrifugation si on voit que le culot s'est un peu décollé).

-Sécher les culots dans un dessiccateur pendant 15 à 30mn à 60°C (il ne faut pas qu'ils soient trop secs). Réduire en poudre les culots (à l'aide d'une baguette en verre).

-Reprendre la poudre dans un volume de 100µl du tampon de solubilisation *Laemml buffer* (Annexe.03).

-Passer au vortex les tubes Eppendorf en mettant 5 min à 100°C, afin de favoriser la dénaturation des protéines.

-Centrifuger les tubes Eppendorf à 10 000 rpm pendant 10mn à 20°C (température ambiante). Stocker à -20°C.

Juste avant les dépôts, décongeler les échantillons, mélanger doucement et centrifuger à 10 000 rpm pendant 10mn à 20°C.

4. 3. 2. Dépôt des échantillons et migration

-Déposer 40 µl d'échantillons par puits à l'aide d'une microsiringue. Un puits est réservé pour des standards de poids moléculaires connus (Annexe. 04) (dans chaque dépôt faire rincer la microsiringue avec le tampon de migration).

-Les cuves sont remplies de tampon de migration (Annexe. 04)

-Les électrodes de la cuve sont reliées au générateur. Une tension électrique de 80 mA a été appliquée entre les électrodes (Dicko, 2006). Une fois la migration terminée, il faut attendre jusqu'à ce que le front de BBP atteigne le bord inférieur des plaques (Approximativement 2-3 h).



La migration se fait de la petite molécule de polypeptide à la grande molécule, la vitesse de migration de la dernière est plus faible que la première et la masse moléculaire est exprimée en KDa.

4. 3. 3. Révélation des gels

La révélation a été faite par coloration et fixation pendant toute une nuit dans une solution de coloration (Annexe. 04). La décoloration a été réalisée par plusieurs rinçages à l'eau distillée.

4. 3. 4. Exploitation des résultats

L'interprétation de ces gels est se fait grâce à l'utilisation du logiciel *Photocapt 8* qui donne le poids moléculaire en fonction du marqueur du poids (FPM). La présence des bandes est codée par « 1 » et leur absence par « 0 ».

L'Analyse hiérarchique des variables des deux gels électrophorétiques a été réalisées par l'utilisation du logiciel spécifique «*MINITAB* version *13.31* pour Windows ».

CHAPITRE III : Résultats et discussion

Tab. 03: Les Moyennes des variables des paramètres morphologiques et leurs groupes homogènes.

	Témoins	N ₁	N ₂	N ₃	N ₄	moyennes
SF (cm²)						
DK	16,380 ± 0,543	12,927 ± 0,513	10,870 ± 1,212	11,293 ± 0,577	9,943 ± 0,646	12,28 ^{CD}
B17	16,990 ± 0,433	13,890 ± 1,162	11,690 ± 1,393	12,257 ± 1,756	8,590 ± 1,609	12,69 ^C
GGR	14,953 ± 1,478	12,833 ± 0,023	11,993 ± 0,362	10,677 ± 0,739	7,970 ± 1,368	11,69 ^D
RAH	24,203 ± 1,505	21,290 ± 0,230	18,493 ± 1,5241	17,023 ± 0,833	16,137 ± 0,289	19,43 ^A
BEL	18,997 ± 1,171	15,100 ± 0,900	14,227 ± 1,328	11,620 ± 0,560	9,890 ± 0,900	13,97 ^B
Vit	11,107 ± 0,773	10,663 ± 1,335	9,330 ± 1,330	11,107 ± 0,773	7,997 ± 1,335	10,04 ^E
W	12,020 ± 0,514	9,000 ± 0,779	7,120 ± 0,351	6,500 ± 0,433	5,037 ± 0,055	7,84 ^F
moyennes	16,379 ^A	13,672 ^B	11,960 ^C	11,497 ^C	9,366 ^D	
PSF (mg/cm²)						
DK	52.540 ± 2.013	53,660 ± 1,071	54,013 ± 0,435	55,597 ± 0,981	57,047 ± 1,222	54,571 ^B
B17	48.070 ± 0.479	55,087 ± 3,082	56,043 ± 0,675	58,130 ± 1,733	66,333 ± 1,915	56,733 ^A
GGR	53.477 ± 0.990	54,993 ± 1,647	57,410 ± 1,176	58,730 ± 1,021	61,607 ± 1,641	57,243 ^A
RAH	33.100 ± 1.228	33,497 ± 0,740	33,843 ± 3,428	41,790 ± 2,668	43,580 ± 0,851	37,162 ^F
BEL	40.227 ± 1.316	41,987 ± 1,248	42,577 ± 2,789	44,470 ± 0,671	45,430 ± 1,182	42,938 ^D
Vit	43.590 ± 1.735	39,997 ± 3,678	36,660 ± 3,487	38,170 ± 1,388	31,610 ± 1,610	38,005 ^E
W	40.817 ± 2.135	47,497 ± 1,942	54,357 ± 3,155	51,353 ± 2,266	66,243 ± 2,375	52,053 ^C
moyennes	44,546 ^D	46,674 ^C	47,843 ^C	49,749 ^B	53,121 ^A	

N_{1, 2, 3, 4} = niveaux du stress hydrique (80%, 50%, 25% et 12.5% de CC successif); DK, B17, GGR, RAH, BEL, Vit et W = génotypes ; (A, B, C...) indice de séparation des groupes homogènes par le test de **NEWMAN-KEULS** au seuil $\alpha=5\%$.



1. Expérimentation 01 (Étude de stress hydrique sous serre)

Au niveau de cette expérience, le comportement des sept géotypes de blé dur étudiés vis-à-vis du stress hydrique est analysé par une étude morphologique (surface foliaire et poids spécifique foliaire), physiologique (teneur relative en eau, taux de la déperdition d'eau, résistance stomatique, taux de chlorophylle totale et rendement quantique du PSII) et biochimique (teneur en proline et en sucres solubles). On rappelle que tous ces paramètres ont été mesurés sur la troisième feuille bien développée.

Après traitements statistiques, les résultats de tous les paramètres sont présentés dans l'ordre suivant :

1. 1. Variation des paramètres morphologiques

L'effet des différents degrés du stress hydrique sur la SF et le PSF des sept géotypes de blé dur testés est bien présenté dans le tableau n° 03.

1. 1. 1. Variation de la surface foliaire (cm²)

Le tableau n° 03 montre une diminution importante de la taille des feuilles des différents géotypes étudiés en fonction du degré du stress hydrique appliqué.

Dans toutes les conditions d'irrigation, la variété RAH présente la surface la plus grande par contre la variété W représente la surface la plus petite par rapport aux autres variétés étudiées (DK, B17, GGR et BEL) qui sont très proches entre eux. Ces résultats montrent que le géotype Vit est moins affecté par cette contrainte (Fig. 07).

Les valeurs enregistrées de la SF chez les témoins s'étalent de (11.107 ± 0.773) cm² (Vitron) à (24.203 ± 1.505) cm² (Rahouia) (Fig. 07).

Sous conditions non irriguées, nous avons observé une diminution de la surface foliaire chez les différents géotypes testés, les valeurs obtenues s'étalent entre (21.290 ± 0.230) cm² (Rahouia) au premier niveau du stress (80% de CC) et (5.037 ± 0.055) cm² (Waha) au quatrième niveau du stress hydrique (12,5% de CC) (Fig. 07).

Au troisième niveau du stress hydrique (25% de CC), on note une augmentation dans la SF avec des pourcentages de 68.94 et 72.14% enregistrés chez les deux géotypes DK et B17 successivement. Le géotype Vit reprend sa valeur qui est enregistrée par son témoin (11.107 ± 0,773) cm² (Fig. 07).



La comparaison des moyennes de la SF et l'analyse de variance montrent qu'il existe une différence très hautement significative entre les niveaux de stress, entre génotypes et l'interaction variété × niveau (Tab. 01 - Annexe. 06).

Le test **NEWMAN-KEULS** au seuil 5% classe le facteur niveau de stress en quatre groupes (Tab. 03). Le premier groupe A contient le témoin avec une moyenne maximale de 16.38 cm². Le deuxième groupe B contient le niveau 80% C.C avec une moyenne de 13.67 cm², le troisième groupe C comporte les deux niveaux 50% C.C et 25 % C.C avec une moyenne de 11.73 cm². Le dernier groupe D enregistre au niveau 12.5% de CC avec une petite moyenne de la SF égale à 9.37 cm².

Pour le facteur génotype le test **NEWMAN-KEULS** au seuil 5% nous donne sept groupes homogènes (Tab. 03). Le premier groupe A est représenté par le génotype RAH avec une moyenne de 19.43 cm². Alors que le dernier groupe F renferme la valeur la plus faible de la SF avec une moyenne générale égale à 7.94 cm² notée chez le génotype W.

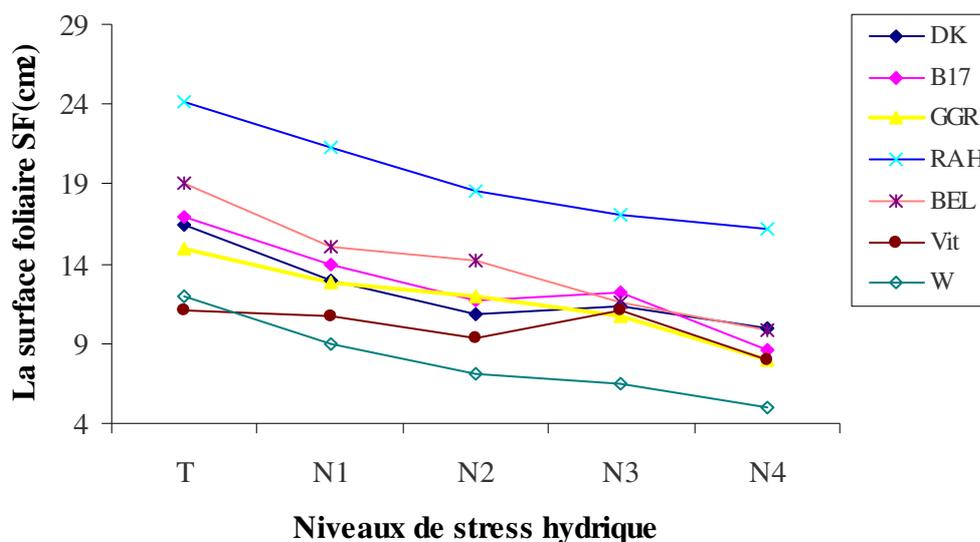


Fig. 07 :L'évaluation de la surface foliaire des sept génotypes de blé dur soumis aux différents niveaux de stress hydrique.

La surface foliaire est un déterminisme important de la transpiration. Une des premières réactions des plantes au déficit hydrique est de réduire la surface foliaire (Lebon et al., 2004). Le développement végétatif sous conditions limitantes d'alimentation hydrique est fortement perturbé (Ferryra et al., 2004), on note principalement une diminution importante de la taille et de la surface foliaire. Cette diminution est une des réponses des végétaux à la déshydratation, elle contribue à la conservation des ressources



en eau, ce qui permet la survie de la plante (Lebon *et al.*, 2004).

L'effet du stress hydrique peut se traduire, selon la stratégie adaptative de chaque espèce ou variété par des modifications morphologiques, ces modifications affectent la partie aérienne ou souterraine : réduction de la surface foliaire et du nombre de talles, enroulement des feuilles et meilleur développement du système racinaire (Slama, 2005). Granier *et al.*, (2000) ont rapporté que les feuilles des plantes soumises au déficit hydrique atteignent habituellement des tailles finales apparentes plus petites par rapport aux contrôles.

1. 1. 2. Variation du poids spécifique foliaire (mg/cm^2)

Les résultats notent une augmentation des valeurs du PSF chez les différents génotypes étudiés mise à part le génotype Vit qui enregistre une diminution du PSF (Tab. 03).

La variété DK enregistre des valeurs du PSF très proche entre elles, ces valeurs varient de (52.54 ± 2.013) mg/cm^2 au témoin à (57.047 ± 1.222) mg/cm^2 au stress sévère (12.5% de CC), marquant par conséquence des pourcentages d'augmentation de 102.1% ,102.8 %, 105.8 et 108.5% chez les quatre niveaux du stress 80% ,50%,25% et 12.5% de la C.C successifs (Fig.08).

Une nette augmentation du PSF est notée chez la variété B17, ses valeurs changent successivement entre (48.070 ± 0.479) et ($66,333 \pm 1,915$) mg/cm^2 chez le témoin et le quatrième niveau du stress. Les pourcentages d'augmentation de 114.59, 116.58, 120.92 et 137.99% signalés aux traitements successifs 80% ,50% ,25% et 12.5 % de la C.C (Fig.08).

Chez la variété GGR, les valeurs du PSF varient de (53.477 ± 0.990) à ($61,607 \pm 1,641$) mg/cm^2 , marquant des pourcentages d'augmentation de 102.8, 107.3, 109.8 et 115.2 % aux quatre niveaux du stress (N_1 , N_2 , N_3 et N_4) respectivement (Fig.08).

Chez le génotype RAH, les valeurs de PSF mesurées fluctuent entre (33.100 ± 1.228) et ($43,580 \pm 0,851$) mg/cm^2 , marquant par conséquence des pourcentages d'augmentation de 101.1, 102.2, 126.2 et 131.6 % chez les quatre niveaux du stress 80% ,50% ,25% et 12.5% de la C.C successifs (Fig.08).

La variété BEL enregistre des valeurs du PSF qui varient de (40.227 ± 1.316) à



(45,430± 1,182) mg/cm²; les pourcentages d'augmentation sont de l'ordre de 104.3, 105.8, 110.5 et 112.9% par rapport aux quatre traitements appliqués 80% ,50% ,25% et 12.5% de la C.C successifs (Fig.08).

Dans la variété Vit les valeurs du PSF varient entre (43.590 ± 1.735) à (31,610± 1,610) mg/cm², marque ainsi des pourcentages de diminution de l'ordre de 91.7, 84.1, 87.5 et 72.5 % par rapport aux quatre niveaux du stress appliqués 80%, 50% ,25%, 12.5% de la C.C successifs (Fig.08).

La dernière variété W enregistre des valeurs du PSF qui fluctuent entre (40.817 ± 2.135) et (66,243± 2,375) mg/cm², marque ainsi des pourcentages d'augmentation de 116.3, 133.1, 125.8 et 162.2% aux quatre niveaux du stress 80%, 50% ,25%, 12.5% de la C.C successifs (Fig. 08).

L'analyse de variance, montre qu'il existe une différence très hautement significative entre : génotypes, niveaux du stress et interaction (variété × niveau) (Tab.02-Annexe.06).

L'analyse du test de **NEWMAN-KEULS** au seuil 5% classe le facteur stress en quatre groupes homogènes (Tab.03). Le premier groupe A indique le niveau sévère (12.5% de CC) auquel la valeur du PSF est plus élevée de 53,121 mg/cm². Le dernier groupe D présente le témoin avec une moyenne de 44,546 mg/cm².

Le test de **NEWMAN-KEULS** au seuil 5% pour le facteur génotype donne six groupes homogènes (Tab.03). Les trois premiers A, B et C correspondent aux génotypes GGR, B17, DK et W qui contiennent les valeurs du PSF les plus élevées avec des moyennes de 57.243, 56.733, 54.571 et 52.053 mg/cm² successivement. Le dernier groupe F contient la valeur la plus basse du PSF qui enregistre chez le génotype Rahouia (37.162 mg/cm²). Les groupes D et E portent respectivement les deux génotypes BEL (42.938mg/cm²) et Vit (38.005 mg/cm²).

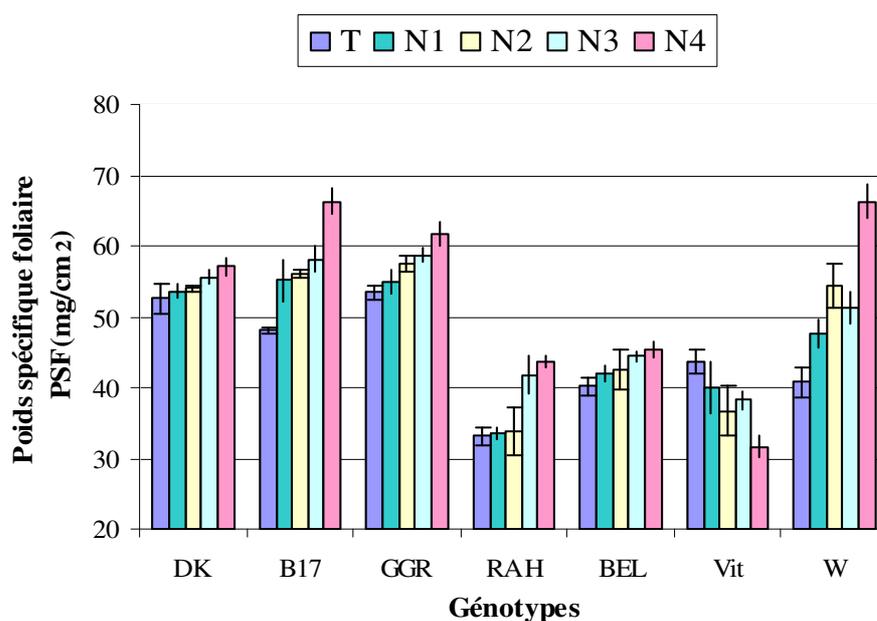


Fig. 08 : Variation du poids spécifique foliaire des sept génotypes de blé dur soumis aux différents niveaux de stress hydrique.

Le poids spécifique foliaire est un des marqueurs importants dans la réponse des plantes à la contrainte hydrique et peut être considéré comme un critère simple de sélection de génotypes présentant une efficacité élevée de l'utilisation de l'eau en conditions de déficit hydrique (Ykhlef, 2001).

Le poids spécifique foliaire du blé dur augmente en condition de stress salin (Zeghida et al., 2004). L'augmentation du PSF chez certaines variétés sous stress est hautement corrélée à la réduction de la surface foliaire (Blum, 1989 in Ykhlef, 2001).

Le processus de réduction de la surface foliaire et l'augmentation du poids spécifique foliaire qui permet aux plantes de se « confronter » au manque d'eau par la réduction de la transpiration (Blanchet et al., 1990 in Ykhlef, 2001).

1. 2. Variation des paramètres physiologiques

L'effet de déficit hydrique sur les sept génotypes étudiés est bien présenté dans le tableau n°04 .Ce tableau récapitule les résultats des paramètres physiologiques obtenus.



Tab. 04: Les Moyennes des variables des paramètres physiologiques et leurs groupes homogènes.

	N ₁	N ₂	N ₃	N ₄	moyennes	Témoins
TRE (%)						
DK	82,991 ± 1,104	77,927 ± 1,072	73,013 ± 1,964	65,432 ± 2,696	55,947 ± 1,974	71,06 ^B
B17	78,547 ± 0,312	71,463 ± 1,690	71,396 ± 1,389	69,300 ± 0,608	58,080 ± 1,910	69,76 ^B
GGR	88,403 ± 1,092	81,538 ± 1,576	69,599 ± 2,754	58,138 ± 2,290	51,785 ± 3,532	69,89 ^B
RAH	77,363 ± 1,060	68,688 ± 2,594	71,750 ± 2,239	67,471 ± 1,116	64,449 ± 1,876	69,94 ^B
BEL	87,179 ± 1,814	76,537 ± 2,840	73,673 ± 2,972	65,367 ± 2,463	63,879 ± 2,738	73,33 ^A
Vit	81,486 ± 1,306	68,394 ± 1,669	66,196 ± 0,410	63,882 ± 1,724	57,736 ± 2,377	67,95 ^C
W	78,308 ± 1,623	73,644 ± 0,935	69,498 ± 1,964	63,889 ± 1,521	54,410 ± 2,263	67,54 ^C
moyennes	82,040 ^A	74,027 ^B	70,732 ^C	64,783 ^D	58,041 ^E	
TDE (g.10⁻³/cm²/mn)						
DK	-2,604 ± 0,099	-6,313 ± 0,824	-6,397 ± 0,507	-9,722 ± 1,713	-10,316±6,508	-06,40 ^B
B17	-7,028 ± 0,529	-4,523 ± 0,110	-9,673 ± 2,093	-14,477± 0,435	-25,410±2,761	-12,22 ^D
GGR	-4,483 ± 0,217	-5,757 ± 1,717	-4,813 ± 0,394	-11,667 ±1,340	-21,970±3,080	-09,74 ^C
RAH	-3,805 ± 0,672	-3,208 ± 0,611	-4,539 ± 0,205	-5,420 ± 0,488	-8,815 ± 1,250	-05,16 ^A
BEL	-6,094 ± 1,270	-4,933 ± 1,833	-8,713 ± 1,697	-8,427 ± 0,434	-25,773±1,427	-10,59 ^C
Vit	-2,333 ± 0,525	-4,600 ± 1,064	-11,350± 1,150	-13,740 ±3,475	-15,965±3,200	-09,60 ^C
W	-8,035 ± 0,385	-11,430± 2,471	-11,363 ± 1,220	-20,430 ±2,967	-27,223±3,312	-15,70 ^E
moyennes	-19,353 ^D	-11,983 ^C	-8,121 ^B	-4,912 ^A	-5,823 ^A	
Rs (m².s/mol)						
DK	38,833 ± 2,516	57,333 ± 12,162	66,333±12,583	29,666 ± 5,507	102,666 ± 4,932	58,87 ^{DE}
B17	20,733 ± 9,016	47,233 ± 3,572	89,833±11,361	86,670 ±21,777	92,000 ± 7,549	67,90 ^{CD}
GGR	57,333 ± 3,214	30,933 ± 5,363	159,966±8,000	188,000± 7,549	241,333± 80,158	128,85 ^B
RAH	57,167±16,854	73,400± 83,658	60,90± 12,252	135,00 ±36,755	136,333± 46,306	78,360 ^C
BEL	32,400±23,602	21,333 ± 4,041	6,786 ± 4,930	103,666±28,571	136,666± 73,159	51,500 ^E
Vit	9,500 ± 2,051	112,333±13,316	107,000±6,557	82,333± 27,209	96,000 ± 34,000	81,430 ^C
W	133,333±8,504	234,333±19,139	244,00±29,461	293,333 ±6,110	516,633± 15,329	284,33 ^A
moyennes	188,805 ^A	82,414 ^D	104,974 ^C	131,239 ^B	49,900 ^E	
TCT (Unité de SPAD)						
DK	34,933± 0,208	34,133 ± 0,723	33,800 ± 0,436	32,933 ± 1,137	32,167 ± 1,531	33,59 ^C
B17	42,467 ± 1,701	39,900 ± 0,200	39,500 ± 0,781	36,900 ± 1,039	35,100 ± 0,954	38,77 ^A
GGR	39,167 ± 0,513	37,487 ± 0,758	36,863± 2,508	35,667 ± 1,943	34,433 ± 2,065	36,72 ^B
RAH	36,400 ± 0,529	35,073 ± 1,633	34,697± 0,609	33,807 ± 1,126	30,653 ± 0,745	34,14 ^B
BEL	41,000 ± 0,557	39,967 ± 0,451	38,810± 0,769	36,877 ± 0,924	33,453 ± 1,520	38,02 ^A
Vit	36,167 ± 0,252	34,600 ± 0,557	34,433 ± 1,150	33,167 ± 0,709	31,467 ± 0,850	33,96 ^C
W	41,333 ± 1,115	39,153 ± 0,780	38,567 ± 0,473	36,900 ± 0,458	34,100 ± 1,153	37,98 ^A
moyennes	35,179 ^C	33,053 ^D	36,667 ^B	38,781 ^A	37,188 ^B	
Φ_{PSII}						
DK	0,584 ± 0,009	0,604 ± 0,011	0,630 ± 0,096	0,613 ± 0,019	0,602 ± 0,008	0,61 ^{AB}
B17	0,631 ± 0,033	0,585 ± 0,022	0,586 ± 0,013	0,604 ± 0,016	0,593 ± 0,013	0,60 ^{AB}
GGR	0,632 ± 0,014	0,615 ± 0,012	0,608 ± 0,054	0,610 ± 0,063	0,640 ± 0,045	0,62 ^{AB}
RAH	0,621 ± 0,015	0,639 ± 0,008	0,639 ± 0,025	0,649 ± 0,011	0,667 ± 0,005	0,64 ^A
BEL	0,548 ± 0,042	0,610 ± 0,033	0,585 ± 0,062	0,563 ± 0,026	0,628 ± 0,009	0,58 ^B
Vit	0,460 ± 0,040	0,486 ± 0,035	0,477 ± 0,014	0,482 ± 0,083	0,468 ± 0,073	0,49 ^C
W	0,425 ± 0,010	0,450 ± 0,080	0,461 ± 0,035	0,484 ± 0,037	0,580 ± 0,059	0,48 ^C

N_{1, 2, 3, 4} = niveaux du stress hydrique (80%, 50%, 25% et 12.5% de CC successif); DK, B17, GGR, RAH, BEL, Vit et W = génotypes ; (A, B, C...) indice de séparation des groupes homogènes par le test de NEWMAN-KEULS au seuil α=5%.



1. 2. 1. Variation de la teneur relative en eau (%)

Une comparaison entre l'évolution de la teneur en eau des sept variétés de blé étudiées a montré que la teneur relative en eau diminue au fur et à mesure que le déficit hydrique s'accroît (Tab. 04).

Les teneurs en eau les plus élevées sont notées chez les témoins, avec une valeur maximale de (88.403 ± 1.092) % enregistrée chez le génotype GGR et une valeur minimale de (77.363 ± 1.060) % enregistrée chez le génotype RAH (Fig. 09). Par opposition, les teneurs en eau les plus faibles sont enregistrées pour les quatre traitements du stress hydrique chez les sept génotypes étudiés.

Au premier niveau de stress N_1 (80% de CC), la valeur minimale est observée dans le génotype Vit de (68.394 ± 1.669) %, alors que la valeur maximale est enregistrée chez le génotype GGR de (81.538 ± 1.576) % (Fig. 09). Les autres variétés marquent des teneurs en eau qui fluctuent respectivement entre (77.927 ± 1.072) et (68.688 ± 2.594) % (Tab. 04).

Pour le deuxième niveau de stress hydrique (50% de CC), la TRE est située entre (66.196 ± 0.410) et (73.673 ± 2.972) % enregistrées successivement chez les génotypes Vit et BEL. Des valeurs proches entre elles sont observées chez les quatre génotypes RAH, B17, GGR et W, elles sont situées entre (71.750 ± 2.239) % et (69.498 ± 1.964) % (Fig.09).

Au troisième niveau de stress N_3 (25% de CC). Une nette diminution de la teneur en eau est observée chez tous les génotypes (Fig.09). La TRE varie entre (58.138 ± 2.290) % chez le génotype GGR et (69.300 ± 0.608) % chez le génotype B17. Les deux génotypes DK et BEL marquent des valeurs de TRE très proches entre elles (65.432 ± 2.696) et (65.367 ± 2.463) % respectivement. La même observation est notée chez les deux autres génotypes W et Vit avec des TRE de (63.889 ± 1.521) et (63.882 ± 1.724) %.

Au dernier niveau de stress N_4 (12,5% de CC), on note une baisse plus importante de la TRE chez les sept génotypes étudiés, avec une TRE minimale égale à (51.785 ± 3.532) % chez le génotype GGR et une TRE maximale égale à (64.449 ± 1.876) % chez le génotype RAH (Fig.09). Les valeurs notées chez les deux variétés RAH et BEL sont proches à celles du niveau précédent (25% de CC) (Tab. 04).

L'analyse de la variance au facteur régime hydrique, donne une différence très



hautement significative. Les mêmes résultats ont été obtenus au facteur variété et au facteur interaction (variété × niveau) (Tab.03-Annexe.06).

Le test de **NEWMAN-KEULS** au seuil 5% pour le facteur traitement indique 5 groupes homogènes (Tab.04). Les groupes A, B, C correspondent au témoin, N₁ (80% de CC) et N₂ (50% de CC) avec des moyennes générales de 82.04%, 74.03% et 70.73% successivement. Les deux derniers groupes D, E correspondent aux traitements de stress qui ont 25% et 12.5% de capacité au champ avec des moyennes générales de 64.78% et 58.04% successivement. Cela signifie que plus l'intensité du stress hydrique s'accroît, plus la teneur relative en eau s'abaisse.

Le test **NEWMAN-KEULS** au seuil 5% classe le facteur variété en trois groupes homogènes (Tab.04). Le premier groupe A porte le génotype BEL avec une moyenne générale maximale égale à 73.33%. Le deuxième groupe B porte les TRE moyennes qui sont enregistrées chez les variétés DK, GGR, RAH et B17, les valeurs varient entre maximales chez le génotype DK de 69.94% et minimales de 69.76% chez le génotype B17. Le dernier groupe C porte les génotypes W et Vit les plus faibles en TRE de 67.95% et 67.54% successivement.

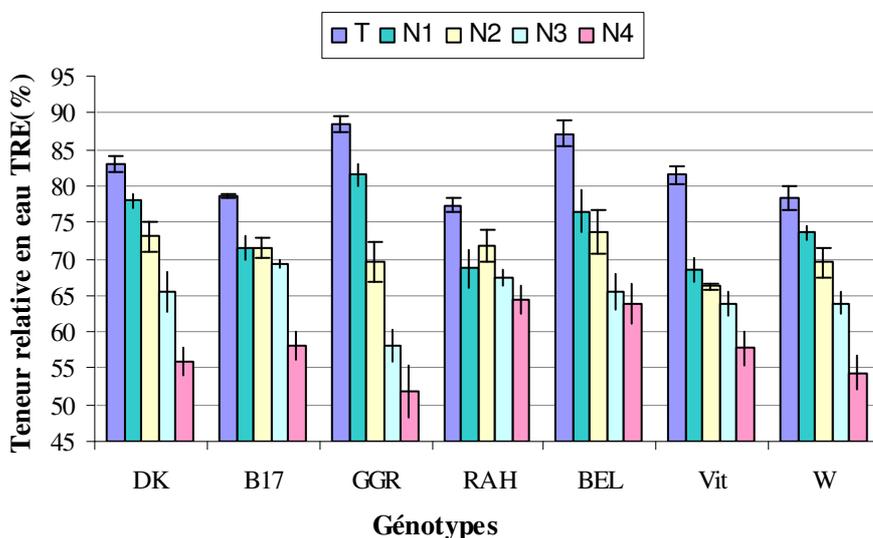


Fig. 09 : Variation de la teneur relative en eau des sept génotypes de blé dur soumis aux différents niveaux de stress hydrique.

Le manque d'eau est un élément déterminant pour la croissance des plantes, particulièrement en région arides et semi arides. Il induit chez les plantes stressées une

diminution du contenu relatif en eau (Albouchi et *al.*, 2000). Clark et Mac-Caig, (1982) attirent l'attention sur l'utilisation de la teneur relative en eau comme indicateur de l'état hydrique de la plante sous stress.

La teneur en eau des feuilles de blé dur diminue proportionnellement avec la réduction d'eau contenue dans le sol (Bajji et *al.*, 2001). Scofield et *al.*, (1988) notent que cette diminution de la TRE est plus rapide chez les variétés sensibles que chez les variétés résistantes. Par contre une TRE élevée dans des conditions de stress a été observée chez le soja (Raissac, 1984 in Zeghida et *al.*, 2004). D'autre part, Matin et *al.*, (1989) in Nouri, (2002) montrent que les génotypes qui maintiennent une TRE élevée dans la présence de stress hydrique sont des génotypes tolérants.

1. 2. 2. Variation du taux de la déperdition d'eau ($\text{g} \cdot 10^3 / \text{cm}^2 / \text{mn}$)

Sous condition de bonne alimentation hydrique, les valeurs du TDE changent entre une valeur maximale de (-2.333 ± 0.525) à une valeur minimale de (-8.035 ± 0.385) $\text{g} \cdot 10^3 / \text{cm}^2 / \text{mn}$ enregistrée chez le génotype Vit et W successivement (Fig.10).

Sous conditions non irriguées N_1 (80% de CC), la valeur maximale est enregistrée chez le génotype RAH de (-3.208 ± 0.611) $\text{g} \cdot 10^3 / \text{cm}^2 / \text{mn}$, alors que la valeur minimale du TDE est inscrite dans le génotype W de (-11.430 ± 2.471) $\text{g} \cdot 10^3 / \text{cm}^2 / \text{mn}$ (Fig. 10).

Pour le deuxième niveau de stress N_2 (50% de CC), les valeurs du TDE situent entre (-11.363 ± 1.220) et (-4.539 ± 0.205) $\text{g} \cdot 10^3 / \text{cm}^2 / \text{mn}$ enregistrés chez les deux génotypes W et RAH successivement (Fig. 10).

Au troisième niveau de stress N_3 (25% de CC). Le TDE varie entre (-20.430 ± 2.967) $\text{g} \cdot 10^3 / \text{cm}^2 / \text{mn}$ chez le génotype W et (-5.420 ± 0.488) $\text{g} \cdot 10^3 / \text{cm}^2 / \text{mn}$ chez le génotype RAH (Fig. 10).

Dans le dernier niveau de stress (12.5% de CC), on constate une diminution plus importante du TDE chez les sept génotypes étudiés avec un TDE minimal égale à (-27.223 ± 3.312) $\text{g} \cdot 10^3 / \text{cm}^2 / \text{mn}$ chez le génotype W et un TDE maximal enregistré chez le génotype RAH égale à (-8.815 ± 1.250) $\text{g} \cdot 10^3 / \text{cm}^2 / \text{mn}$ (Fig. 10).

D'après l'analyse de la variance effectuée sur les deux facteurs variété, niveau de stress et l'analyse de la variance de leur interaction on constate l'existence d'une



différence très hautement significative (Tab 04-Annexe.06).

Le test **NEWMAN-KEULS** au seuil 5% classe les niveaux de stress en quatre groupes (Tab. 04), dont les moyennes les plus élevées (-4.91 et -5.82 $g \cdot 10^3/cm^2/mn$, groupe A) sont enregistrées au témoin et 80% de CC, alors que la moyenne la plus faible est marquée au traitement 12.5% (-18.7 $g \cdot 10^3/cm^2/mn$, groupe D). Par contre, les deux traitements (50 % et 25 %C.C.) présentent les deux groupes B et C avec des moyennes de taux de la déperdition d'eau de (-8.12 et -11.98) $g \cdot 10^3/cm^2/mn$ successifs.

Le test **NEWMAN-KEULS** au seuil 5% nous isole cinq groupes homogènes dont la variété affichant la valeur la plus élevée est RAH avec une moyenne de -5.16 $g \cdot 10^3/cm^2/mn$, en étant affectée au premier groupe A. Contrairement au génotype W qui enregistre la valeur la plus faible -15.70 $g \cdot 10^3/cm^2/mn$, en étant affectée au dernier groupe E (Tab. 04)

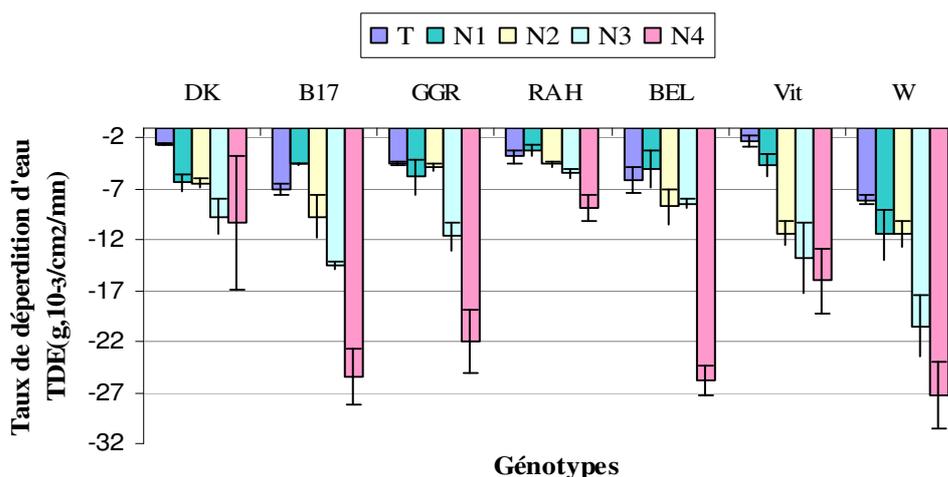


Fig. 10 : Variation du taux de déperdition d'eau des sept génotypes de blé dur soumis aux différents niveaux de stress hydrique.

Plusieurs chercheurs ont montré que les feuilles qui proviennent de plantes stressées perdent plus d'eau que les plantes non stressées (Clark et Mac-Caig, 1982), par contre nos résultats indiquent que les plantes stressées perdent une quantité d'eau moins que chez les plantes non stressées. D'autres Kirkham et *al.*, (1980) relie directement la perte d'eau à la surface foliaire, plus la surface est large, plus le taux de déperdition augmente, comme dans le cas de notre étude.

Certaines variétés ont la particularité de l'enroulement des feuilles lors d'un déficit hydrique. Cet enroulement lui permet la diminution des pertes d'eau par transpiration



cuticulaire (El-Hakimi, 1991 ; El-Jaafari, 1995 in Zeghida et *al.*, 2004).

1. 2. 3. Variation de la résistance stomatique ($m^2.s/mol$)

Une nette augmentation de la résistance stomatique est observée chez la plupart des génotypes étudiés dans le quatrième niveau de stress. Cette augmentation est bien présentée dans le génotype W (Tab. 04).

Sous les conditions non déficitaires, les différents génotypes présentent des résistances stomatiques faibles. Toutefois, le génotype W enregistre la valeur la plus élevée de $(133.333 \pm 8.504) m^2.s/mol$, contrairement au génotype Vit ayant la R_s la plus faible $(9.500 \pm 2.051) m^2.s/mol$ (Fig.11).

En ce qui concerne le premier lot soumis au stress hydrique (80% de CC), les valeurs de la R_s varient du maximum $(234.333 \pm 19.139) m^2.s/mol$ chez le génotype W au minimum de $(21.333 \pm 4.041) m^2.s/mol$ chez le génotype BEL (Fig.11). On remarque des différences de comportements qui sont enregistrées chez les différents génotypes testés ; cependant certains génotypes (DK, B17, RAH, GGR et BEL) semblent être insensibles au stress hydrique en enregistrant des R_s plus ou moins comparables à leurs témoins. Une nette augmentation de la R_s est notée chez les deux génotypes W et Vit avec des taux d'augmentation de 175.75% et 1182.45% par rapport à leurs témoins successifs.

Au niveau du stress 50% de C.C, la résistance stomatique augmente chez tous les génotypes à part le génotype BEL qui a enregistré un taux de diminution de 20.94% par rapport à son témoin. Les valeurs de la R_s changent entre $(6.786 \pm 4.930) m^2.s/mol$ chez le génotype BEL et $(244.00 \pm 29.461) m^2.s/mol$ chez le génotype W (Fig.11).

Au troisième niveau de stress (25% de CC), le comportement des sept génotypes de blé dur étudiés est devenu plus remarquable. Une augmentation de la R_s est notée chez les différents génotypes sauf le génotype DK qui enregistre un taux de diminution de 76.39% par rapport à son témoin. Les valeurs de la R_s varient entre $(29.666 \pm 5.507) m^2.s/mol$ chez le génotype DK et $(293.333 \pm 6.110) m^2.s/mol$ chez le génotype W (Fig.11).

Dans le dernier niveau de stress (12.5% de CC), on note une augmentation plus importante de la R_s chez les sept génotypes étudiés mais à des degrés différents (Fig.11), avec une R_s maximale égale à $(516.633 \pm 15.329) m^2.s/mol$ enregistrée chez le génotype W et une R_s minimale égale à $(92.000 \pm 7.549) m^2.s/mol$ enregistrée chez le génotype B17.



La comparaison des moyennes de la Rs et l'analyse de variance, montrent qu'il existe une différence très hautement significative entre les niveaux du stress, entre les génotypes et entre l'interaction (variété × niveau) (Tab.05-Annexe.06).

Le test de **NEWMAN-KEULS** au seuil 5% indique cinq groupes homogènes pour le facteur stress. Le premier groupe (A) comprend le N₄ (188.805 m².s/mol). Le dernier groupe contient le témoin avec une moyenne de 49.90 m².s/mol (Tab.04).

L'analyse statistique du facteur génotype en utilisant le test de **NEWMAN-KEULS** au seuil 5% indique 6 groupes homogènes (Tab.04). Le premier groupe A et le second B correspondent aux génotypes qui ont les valeurs de la Rs les plus élevées (W) 284.33 m².s/mol et (GGR) 128.85 m².s/mol. Les deux groupes intermédiaires CD, DE ont des moyennes de 67.9 m².s/mol enregistrées chez la variété B17 et de 58.87 m².s/mol notée chez la variété DK. Le dernier groupe E a enregistré la valeur la plus faible de la Rs (BEL) de 51.50 m².s/mol.

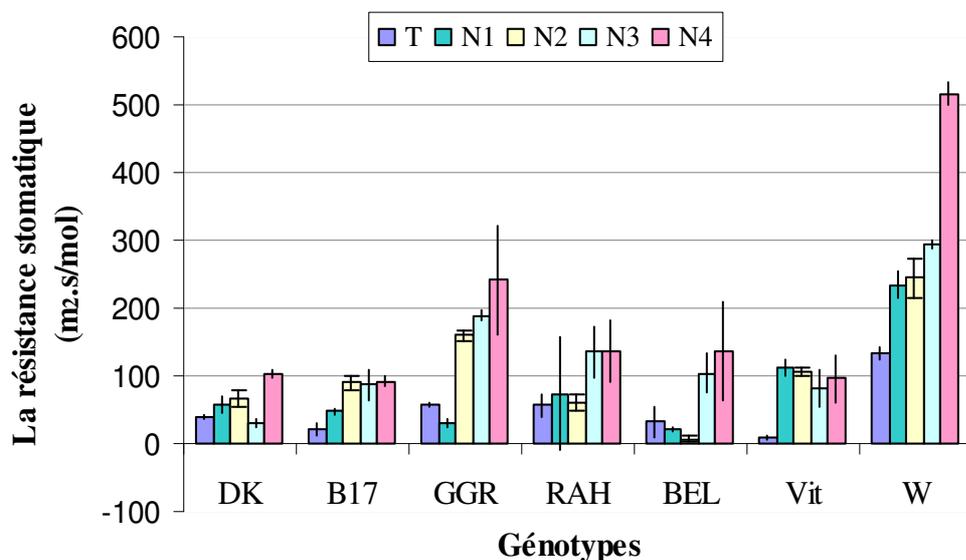


Fig.11 : Variation de la résistance stomatique des sept génotypes de blé dur soumis aux différents niveaux de stress hydrique.

Bousba et *al.*, (2009) ont montré que le blé répond au stress hydrique par une augmentation dans la résistance stomatique. La fermeture prolongée des stomates entraîne l'arrêt des processus photosynthétiques et ainsi un faible rendement (Bousba et *al.*, 2009). La fermeture stomatique rapide est la meilleure adaptation au stress hydrique, elle permet



à la plante d'économiser l'eau disponible et de maintenir une teneur en eau des tissus élevés et aussi une certaine sensibilité à la déshydratation (Djekoun et Planchon, 1992 ; Djekoun et Ykhlef, 1996).

Les géotypes dit tolérants ont pu assurer une bonne ouverture stomatique, contrairement aux variétés sensibles dont la fermeture stomatique intense (Bjorn et *al.*, 1992 ; El jaafari 1993 in Nouri, 2002).

1. 2. 4. Variation du taux de la chlorophylle totale (unité de SPAD)

Le taux de la chlorophylle totale diminue corrélativement au fil de degré de stress hydrique chez les différents géotypes étudiés. (Tab. 04).

Sous conditions de bonne alimentation hydrique, on note que les valeurs du taux de la chlorophylle totale diffèrent selon les variétés. Les variétés (B17, BEL, W et GGR) représentent les TCT les plus élevés, avec un maximum chez la variété B17 (42.467 ± 1.701) unité de SPAD, par contre les variétés (Vit, RAH et DK) représentent les TCT les plus faibles d'un minimum (34.933 ± 0.208) unité de SPAD chez la variété DK (Fig. 12).

Pour les deux traitements non irrigués (80 et 50% de CC), on remarque que le comportement des différents géotypes étudiés semble le même avec des fluctuations très infimes, où la valeur la plus élevée est égale à (39.967 ± 0.451) unité de SPAD enregistrée chez le géotype BEL au premier niveau du stress (80% de CC) et une valeur plus faible égale à (33.800 ± 0.436) unité de SPAD enregistrée chez le géotype DK au deuxième niveau du stress (50%). On remarque aussi que les deux géotypes testés (DK et BEL) enregistrent des valeurs des TCT plus ou moins proches à celles des témoins (Fig. 12).

En condition de stress (25% de CC), les valeurs du TCT varient entre (32.933 ± 1.137) unité de SPAD chez le géotype DK et (36.900 ± 1.039) unité de SPAD chez les deux géotypes B17 et W (Fig. 12).

Sous conditions de stress sévère (12.5% de CC), on remarque que tous les géotypes testés ont diminué leur TCT par rapport aux témoins, cette diminution devient très importante chez les géotypes BEL, W et B17 qui enregistrent des pourcentages de diminution de 81.15, 82.5 et 82.6% successifs. Les valeurs du TCT se situent à un maximum de (35.100 ± 0.954) unité de SPAD chez le géotype B17 et à un minimum de (30.653 ± 0.745) unité de SPAD chez le géotype RAH (Fig. 12).



La comparaison des moyennes du TCT et l'analyse de variance, montrent qu'il existe une différence très hautement significative entre les niveaux de stress et entre les génotypes. En plus, l'analyse de variance montrée qu'il y a une différence non significative entre interaction (variété × niveau) (Tab. 06-Annexe.06).

Le test **NEWMAN-KEULS** au seuil 5% classe le facteur niveau de stress en quatre groupes (Tab. 04). Les deux premiers groupes A (témoin) et B ($N_{1,2}$) présentent les TCT les plus élevées 38.78 unité de SPAD et 37.20, 36.50 unité de SPAD respectivement, par contre les deux derniers groupes présentent les TCT les plus faibles.

Le test **NEWMAN-KEULS** au seuil 5% classe le facteur variété en trois groupes A, B et C (Tab. 04). Le premier groupe A englobe les trois génotypes B17, BEL, W avec des moyennes générales de 38.77, 38.02, 37.98 unité de SPAD successivement. Le deuxième groupe B contient les génotypes GGR et RAH qui donnent les valeurs du TCT de 36.72, 34.14 unité de SPAD respectivement. Le dernier groupe C englobe les deux génotypes Vit (33.96 unité de SPAD) et DK (33.59 unité de SPAD).

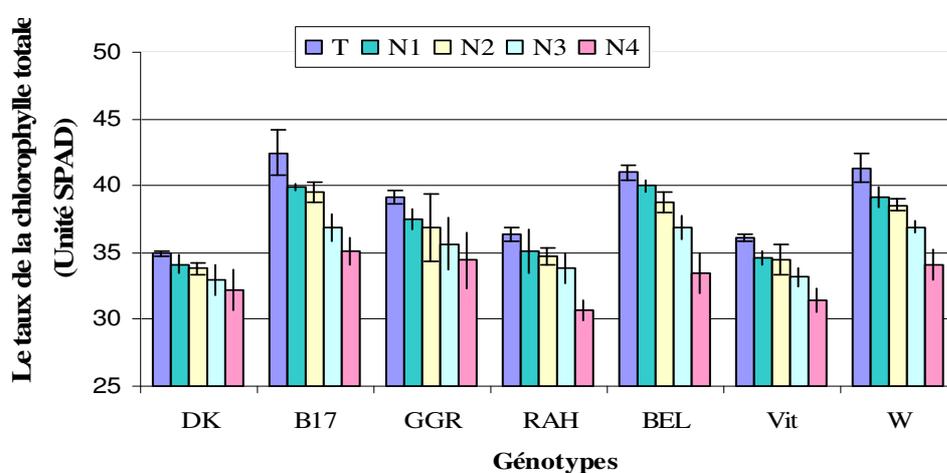


Fig.12 : Variation du taux de la chlorophylle totale des sept génotypes de blé dur soumis aux différents niveaux de stress hydrique.

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

L'augmentation des teneurs en chlorophylle totale est la conséquence de la



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

1. 2. 5. Variation du rendement quantique du PSII (Φ_{PSII})

Des différences de comportements sont enregistrées chez les différents génotypes étudiés et aux différents niveaux d'irrigation (Tab. 04).

Sous conditions de bonne alimentation hydrique, on remarque des Φ_{PSII} allant du maximum (0.425 ± 0.010) chez le génotype GGR au minimum (0.632 ± 0.014) chez le génotype W. Par ailleurs, on note que les génotypes ayant le Φ_{PSII} le plus élevé sont : GGR, RAH, B17 et DK qui est de l'ordre de (0.632 à 0.584), par contre les trois génotypes BEL, Vit et W enregistrent les Φ_{PSII} les plus faibles (Fig. 13).

Pour les deux premiers niveaux du stress (N_1 et N_2), on remarque que les sept génotypes testés présentent un Φ_{PSII} plus ou moins comparable à celui des témoins, avec une valeur maximale (0.639 ± 0.025) enregistrée chez le génotype RAH aux deux niveaux (N_1 et N_2) et une valeur minimale (0.450 ± 0.080) enregistrée chez le génotype W au niveau (N_1). On note une baisse du Φ_{PSII} chez les génotypes B17 et GGR par rapport aux témoins, par contre les autres génotypes enregistrent une augmentation du Φ_{PSII} plus ou moins importante. En effet, les valeurs du Φ_{PSII} dans ces deux niveaux (N_1 et N_2) restent presque constantes (Fig. 13).

En ce qui concerne le troisième niveau du stress (25 % de CC), les valeurs du Φ_{PSII} naviguent entre (0.649 ± 0.011) chez le génotype RAH et (0.482 ± 0.083) chez le génotype Vit. On remarque que les deux génotypes B17 et GGR notent des diminutions du Φ_{PSII} , alors que les autres génotypes marquent des augmentations du Φ_{PSII} (Fig. 13).

Dans le dernier niveau de stress hydrique (12.5% de CC), on remarque que le



génotype B17 enregistre un pourcentage de diminution de 93.97% alors qu'une augmentation du Φ_{PSII} est notée chez les autres génotypes testés, avec un Φ_{PSII} plus élevé enregistré chez le génotype W de (0.580 ± 0.059) par rapport à son témoin (0.425 ± 0.010) et une faible valeur de (0.468 ± 0.073) enregistré chez le génotype Vit (Fig. 13).

L'analyse de la variance à deux facteurs, montre qu'il existe une différence très hautement significative entre les génotypes et une différence non significative entre les niveaux de stress, avec une interaction (variété \times niveau) non significative. (Tab.07-Annexe.06).

Le test **NEWMAN-KEULS** au seuil 5%, classe le facteur variété en quatre groupes homogènes : le premier groupe A porte la valeur la plus élevée de Φ_{PSII} 0.64 pour le génotype RAH, la même chose pour le groupe intermédiaire AB qui englobe les génotypes B17, DK et GGR (0.60, 0.61 et 0.62) successifs. Le troisième groupe porte le génotype BEL (0.58). Le dernier groupe C donne les valeurs les plus faibles (0.49 et 0.48), il comprend respectivement les génotypes Vit et W (Tab.04).

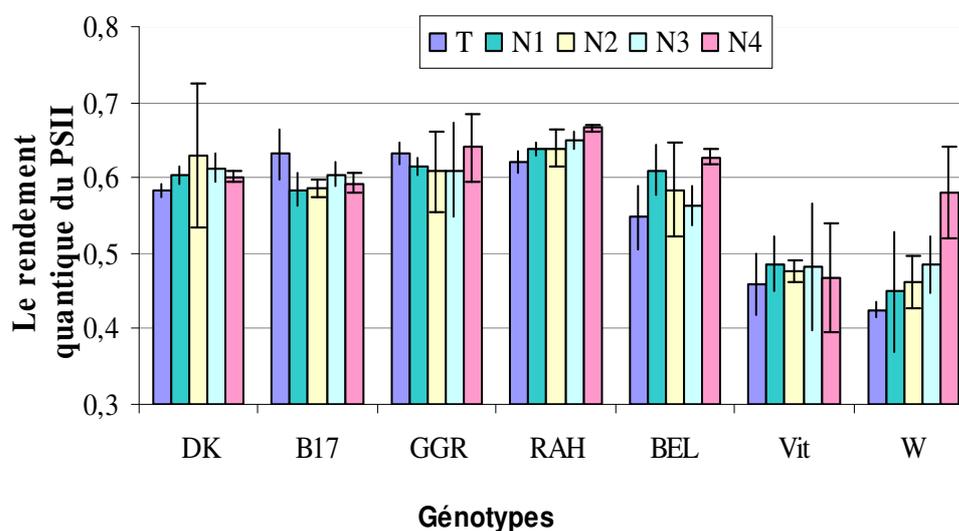


Fig.13 : Variation du rendement quantique du PSII des sept génotypes de blé dur soumis aux différents niveaux de stress hydrique.

L'utilisation des paramètres de la fluorescence chlorophyllienne comme indicateurs de tolérance au stress hydrique et aux hautes températures permettront de définir les méthodologies pour la classification par l'efficacité photosynthétique aux différents stades de développement des plantes des génotypes selon leur tolérance au stress (Ykhlef et



Djekoun, 2000 ; Ykhlef, 2001).

Strasser et *al.*, (2004) ont démontré l'avantage d'employer un certain nombre de paramètres de fluorescence dérivés de la fluorescence chlorophyllienne pour évaluer la fonction de PSII comme un statut physiologique d'une plante qui est exposée à divers facteurs de stress. Il l'a été employé aussi pour mesurer l'effet des inhibiteurs du photosystème II (PSII) (Christensen et *al.*, 2003).

Les investigations basées sur des évaluations de la fluorescence chlorophyllienne ont prouvé que le PSII est tout à fait résistant aux déficits hydriques (Lu et Zhang, 1998). Oukarroum, (2007) montre qu'il n'y a aucune perte dans le rendement de la photochimie primaire de PSII chez l'orge en condition de stress.

Tab.05 : Les Moyennes des variables des paramètres biochimiques et leurs groupes homogènes.

	N ₁	N ₂	N ₃	N ₄	moyennes	Témoins
Prol (µg/100mg MF)						
DK	48,767± 1,365	116,667±3,156	132,033±1,858	240,233± 7,580	305,433± 7,170	168,62 ^B
B17	22,367± 2,376	75,933 ± 3,750	129,567±2,495	150,133± 5,918	220,400± 1,735	119,68 ^C
GGR	18,667± 1,050	34,733 ± 0,950	65,200 ± 2,066	243,367± 3,750	336,667± 2,871	169,73 ^A
RAH	17,867± 0,503	23,367 ± 3,027	140,600±6,202	167,267± 4,903	248,433± 2,793	119,51 ^C
BEL						
Vit	17,067± 0,153	41,633 ± 2,363	196,900±2,946	214,333± 4,464	375,200± 5,567	169,03 ^A
W	41,967± 3,785	53,367 ± 6,341	71,433 ± 5,564	110,533± 3,580	170,267± 5,244	89,510 ^C
moyennes	15,033± 2,335	23,067 ± 0,351	36,467 ± 1,401	200,333± 1,365	339,300± 4,915	122,84 ^C
		25,962 ^E	52,681 ^D	110,314 ^C	189,457 ^B	285,100 ^A
Suc (µg/100mg MF)						
DK	400,067±1,620	569,767±2,359	472,200±2,506	596,433± 5,478	1110,70±1,700	629,83 ^A
B17	436,000±3,606	457,967±5,997	468,767±3,828	481,300± 5,927	541,500±4,419	477,11 ^C
GGR	270,200±3,404	406,500±2,066	395,733±3,301	553,533±4,8548	833,334±0,404	491,86 ^B
RAH	335,600±4,636	292,233±4,038	370,900±2,961	390,200± 4,877	466,200±3,830	371,03 ^E
BEL						
Vit	202,833±3,530	296,033±6,021	503,000±6,421	596,567± 5,297	700,667±4,631	460,35 ^D
W	383,200±4,464	481,333±7,379	426,900±6,744	467,033± 2,838	543,667±5,445	460,43 ^D
moyennes	322,733±6,756	367,900±9,007	390,667±5,254	404,733± 4,215	449,967±1,290	385,00 ^F
		335,805 ^E	410,248 ^D	432,595 ^C	498,543 ^B	663,719 ^A

N_{1, 2, 3, 4} = niveaux du stress hydrique (80%, 50%, 25% et 12.5% de CC successif); DK, B17, GGR, RAH, BEL, Vit et W = génotypes ; (A, B, C...) indice de séparation des groupes homogènes par le test de **NEWMAN-KEULS** au seuil $\alpha=5\%$.



1. 3. Variation des paramètres biochimiques

Le tableau n° 05 montre le comportement des sept géotypes de blé dur soumis aux différents niveaux d'irrigation par la teneur en la proline et en sucres solubles.

1. 3. 1. Variation de la teneur en proline ($\mu\text{g}/100\text{mg MF}$)

En condition de bonne alimentation hydrique, on constate que les teneurs en proline restent faibles et relativement proches d'un géotype à un autre, avec un maximum de $(48.767 \pm 1.365) \mu\text{g}/100\text{mg MF}$ enregistré chez le géotype DK et un minimum $(15.033 \pm 2.335) \mu\text{g}/100\text{mg MF}$ noté chez le géotype W (Fig. 14).

Dans le premier niveau du stress hydrique, on remarque que les différents géotypes testés enregistrent des teneurs en proline très proches des témoins. Les résultats suggèrent que les plantes utilisées n'ont pas encore été affectées par ce niveau de stress hydrique. Néanmoins les deux géotypes DK et B17 enregistrent des valeurs plus élevées (116.667 ± 3.156) et $(75.933 \pm 3.750) \mu\text{g}/100\text{mg MF}$ successifs (Fig. 14).

Pour le 2^{ème} niveau du stress hydrique, on note chez les trois géotypes testés : W, Vit et GGR des teneurs en proline faibles et très proches de celles des témoins, avec des valeurs de l'ordre de $(36.467 \text{ à } 65.200) \mu\text{g}/100\text{mg MF}$, par opposition les géotypes : DK, B17, RAH et BEL enregistrent des teneurs en proline très élevées de l'ordre de $(132.033 \text{ à } 196.900) \mu\text{g}/100\text{mg MF}$ (Fig. 14).

En ce qui concerne le troisième niveau du stress (25 % de CC), on observe une évolution très importante de la teneur en proline qui se situe entre $(243.367 \pm 3.750) \mu\text{g}/100\text{mg MF}$ chez le géotype GGR et $(110.533 \pm 3.580) \mu\text{g}/100\text{mg MF}$ chez le géotype Vit qui marque par conséquence des pourcentages d'augmentation de 1332.62, 1303.72, 1256.20, 935.70, 671.22, 492.61 et 263.38% enregistrés chez les géotypes W, GGR, BEL, RAH, B17, DK et Vit successifs (Fig. 14).

Sous conditions de stress sévère (12.5% de CC), on note une suite d'augmentation de la teneur en proline qui est estimée à 2257.03, 2198.3, 1803.5, 1390.4, 985.38, 626.3 et 405.7% chez les géotypes W, BEL, GGR, RAH, B17, DK et Vit successifs. Le géotype BEL mentionne la teneur maximale $(375.200 \pm 5.567) \mu\text{g}/100\text{mg MF}$, contrairement au géotype Vit qui enregistre la valeur minimale $(170.267 \pm 5.244) \mu\text{g}/100\text{mg MF}$ (Fig. 14).



L'analyse statistique de la variance des résultats obtenus révèle l'existence de différence très hautement significative entre les niveaux de stress, entre les géotypes étudiés et une différence très hautement significative pour l'interaction des deux facteurs (variété × niveau) (Tab. 08-Annexe.06).

Le test **NEWMAN-KEULS** au seuil 5% classe le facteur niveau de stress en cinq groupes A, B, C, D, E (Tab. 05). Les groupes A et B correspondent aux niveaux de stress 12.5% et 25% C.C qui caractérisent la plus haute accumulation de la proline avec des moyennes de 285.10 et 189.416 $\mu\text{g}/100\text{mg}$ MF successifs. Le groupe C présente le traitement 50% C.C avec une moyenne de 110.31 $\mu\text{g}/100\text{mg}$ MF. Tandis que, les deux derniers groupes D et E contiennent les deux traitements 80%CC et témoin avec une faible moyenne de teneur en proline de 52.68 et 25.96 $\mu\text{g}/100\text{mg}$ MF successifs (Tab. 05).

Le test **NEWMAN-KEULS** au seuil 5% classe le facteur variété en trois groupes A, B et C (Tab. 05). On remarque que ces groupes ont la capacité d'accumuler la proline mais avec des degrés différents gouvernés par le potentiel génétique des géotypes étudiés. Les deux premiers groupes A et B contiennent les géotypes GGR, BEL et DK, qui accumulent plus de proline avec une moyenne qui varie de (169.73 à 168.2) $\mu\text{g}/100\text{mg}$ MF. Le dernier groupe C est représenté par les géotypes Waha de (122.84 $\mu\text{g}/100\text{mg}$ MF), Bidi 17 (119.68 $\mu\text{g}/100\text{mg}$ MF) et Rahouia (119.51 $\mu\text{g}/100\text{mg}$ MF) de moyenne. Chez les géotypes DK et B17 l'accumulation de la proline commence à partir de N_1 (80% CC). Par contre, l'accumulation de la proline a commencé au N_2 chez les géotypes RAH, BEL et Vit, tandis que chez GGR et W l'accumulation de la proline a commencé au niveau trois N_3 .

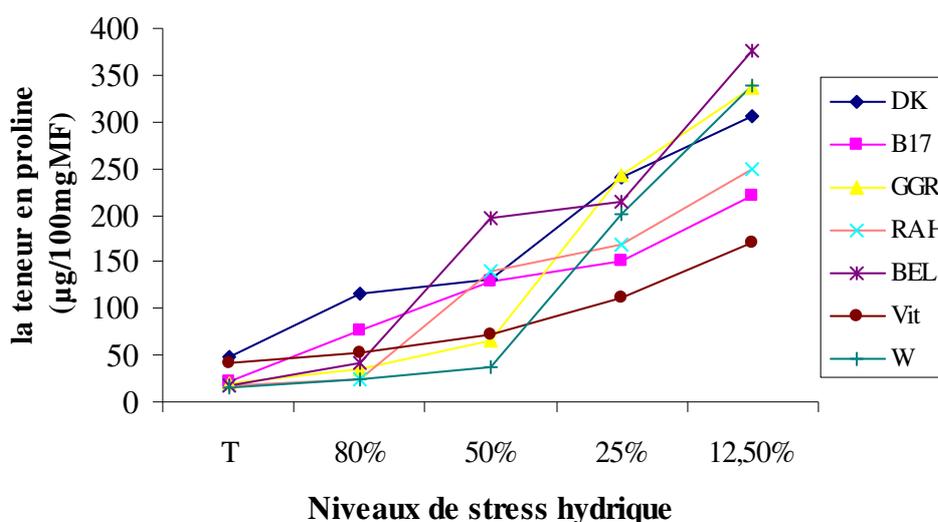


Fig.14 :L'évaluation de la teneur en proline des sept géotypes de blé dur soumis aux différents niveaux de stress hydrique.

Plusieurs auteurs montrent que l'augmentation de la teneur en proline est reliée directement à l'application du stress hydrique (Cechin *et al.*, 2006). L'accumulation de la proline a été démontrée chez de nombreuses espèces et dans différentes situations de stress (osmotiques, hydriques, thermiques) (Blum, 1996). Plus le niveau de stress appliqué augmente plus les teneurs en proline deviennent plus marquées (Savouré *et al.*, 1995).

Cette corrélation négative entre l'accumulation de la proline et l'humidité du sol est observée chez différentes espèces de blé dur (Nouri, 2002), chez la luzerne (Hireche, 2006). Il apparaît que la proline peut conférer la tolérance des plantes aux stress par le développement d'un système antioxydant qui peut jouer un rôle d'indicateur d'ajustement osmotique (Eliane *et al.*, 2007).

1. 3. 2. Variation de la teneur en sucres solubles (µg/100mg MF)

La teneur en sucres solubles augmente corrélativement au fil du degré de stress chez les sept géotypes étudiés. Les fortes accumulations des sucres solubles sont observées au quatrième niveau de stress, par contre les plus faibles teneurs en sucres solubles sont enregistrées en condition d'irrigation (Tab. 05).

Sous conditions non stressantes, une accumulation des sucres solubles de (436.000 ± 3.606) à (202.833 ± 3.530) µg/100mg MF notée chez les deux géotypes B17 et BEL



respectivement. Dans ces conditions, on observe que la teneur en sucres solubles chez la variété RAH est plus forte que dans le premier niveau de stress (80% de CC) (Fig. 15).

Dans le premier niveau de stress hydrique, on remarque que les génotypes : B17, W, RAH et Vit enregistrent des teneurs plus ou moins proches de celles des témoins par contre les autres génotypes : BEL, GGR et DK enregistrent des teneurs plus élevées que chez ses témoins. Les teneurs en sucres solubles fluctuent entre une valeur minimale enregistrée chez le génotype RAH de $(292.233 \pm 4.038) \mu\text{g}/100\text{mg MF}$ et une valeur maximale de $(569.767 \pm 2.359) \mu\text{g}/100\text{mg MF}$ enregistrée chez le génotype DK (Fig. 15).

Sous condition de stress de 50% de CC, on observe une diminution de la teneur en sucres solubles par rapport au niveau de stress précédent (80% de CC) notée chez les génotypes : DK, Vit et GGR, par contre les deux génotypes : BEL et RAH notent une forte accumulation en sucres solubles. Les autres génotypes B17 et W marquent des teneurs plus ou moins élevées par rapport au niveau N₂. La teneur la plus élevée est notée chez le génotype BEL de $(503.000 \pm 6.421) \mu\text{g}/100\text{mg MF}$ par contre la valeur la plus faible est enregistrée chez le génotype RAH de $(370.900 \pm 2.961) \mu\text{g}/100\text{mg MF}$ (Fig. 15).

Pour le troisième niveau de stress (25% de CC), on note chez l'ensemble des génotypes étudiés des teneurs plus en moins élevées par rapport aux premiers niveaux de stress, avec une valeur minimale $(390.200 \pm 4.877) \mu\text{g}/100\text{mg MF}$ chez le génotype RAH et une valeur maximale $(596.567 \pm 5.297) \mu\text{g}/100\text{mg MF}$ chez le génotype BEL (Fig. 15).

Dans le dernier niveau de stress (12.5% de CC), on note une augmentation plus importante de la teneur en sucres solubles chez les sept génotypes étudiés, avec une teneur maximale enregistrée chez le génotype DK égale à $(1110.70 \pm 1.700) \mu\text{g}/100\text{mg MF}$ et une teneur minimale notée chez le génotype W égale à $(449.967 \pm 1.290) \mu\text{g}/100\text{mg MF}$ (Fig. 15).

L'analyse de la variance au facteur niveau de stress hydrique, donne une différence très hautement significative. Les mêmes résultats ont été obtenus au facteur variété et au facteur interaction (variété \times niveau) (Tab. 09-Annexe.06).

Le test de **NEWMAN-KEULS** au seuil 5% classe les niveaux de stress en cinq groupes homogènes (Tab. 05). Le premier groupe A comprend le niveau 12.5% C.C auxquels les génotypes accumulent fortement les sucres solubles avec une moyenne de



663.72 $\mu\text{g}/100\text{mg}$ MF. Les groupes B, C et D représentent les autres niveaux (25%, 50% et 80%) auquel les génotypes accumulent moyennement les sucres solubles (498.50, 431.31 et 410.39 $\mu\text{g}/100\text{mg}$ MF) successifs. Le dernier groupe E contient le témoin où l'accumulation des sucres est faible de 335.8 $\mu\text{g}/100\text{mg}$ MF.

Pour le facteur génotype le test **NEWMAN-KEULS** au seuil 5% donne six groupes homogènes (Tab. 05). Le premier groupe A contient le meilleur génotype DK avec une moyenne de 629.83 $\mu\text{g}/100\text{mg}$ MF. Les deux derniers groupes E et F abritent les deux génotypes (RAH) et (W) avec de faible moyenne de la teneur en sucres solubles de 385 et 371.03 $\mu\text{g}/100\text{mg}$ MF successivement (Tab. 05).

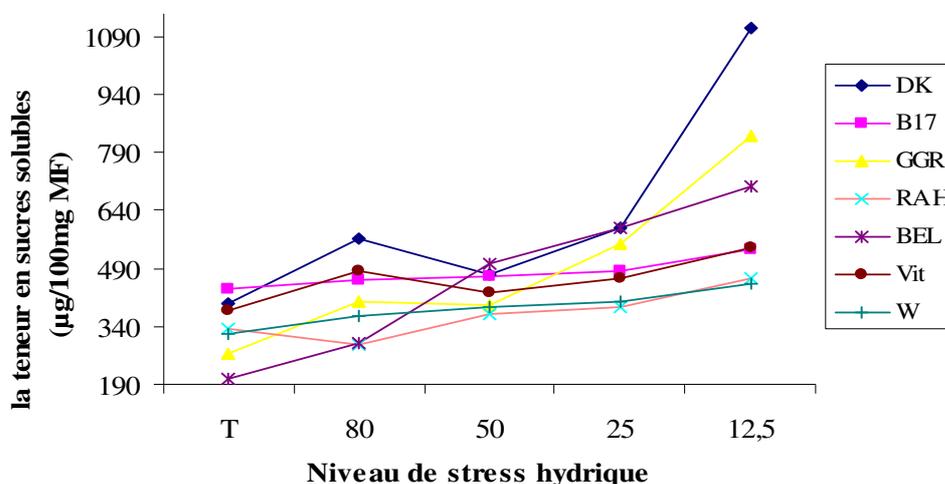


Fig.15 : L'évaluation de la teneur en sucres solubles des sept génotypes de blé dur soumis aux différents niveaux de stress hydrique.

Lors de notre expérimentation, nous avons noté qu'il y a une augmentation progressive de la teneur en sucres solubles avec l'accentuation de la sévérité du stress hydrique (Nouri, 2002). L'accumulation des sucres solubles est un moyen adopté par les plantes en cas de stress, afin de résister aux contraintes du milieu (Loretti et al., 2001). Les sucres solubles sont des indicateurs des degrés de stress, à cause de son importante augmentation lors de la sévérité, les sucres métaboliques (glucose, galactose, saccharose, et fructose) permettent la résistance aux différents stress (Zerrad et al., 2006).

Les sucres solubles protègent les membranes contre la déshydratation, en condition de déficit hydrique, ils participent en grande partie à l'abaissement du potentiel osmotique chez le blé. Les plantes stressées ont réagi par l'augmentation des quantités de sucres solubles au niveau de leurs cellules (Hireche, 2006). Cette augmentation est en réalité une

confirmation des résultats des chercheurs qui ont affirmé que le déficit hydrique a causé une accumulation importante des sucres solubles au niveau des feuilles (Zerrad et *al.*, 2006).

2. Expérimentation 02 (Étude de stress hydrique *in vitro*)

L'objectif de cette partie est de réaliser l'étude du comportement génétique des sept génotypes de blé dur (Tab.01) confronté à un stress osmotique (-1MPa) induit par le PEG, un premier lot représente le témoin et un deuxième lot représente le traitement (-1MPa). L'étude d'électrophorèse (SDS-PAGE) des protéines totales appliquée sur les racines et les feuilles des plantules obtenues par culture *in vitro*.

2.1. Variation de la croissance *in vitro*

Au niveau de la plante entière (Planche.02-03), le PEG induit également une réduction de la taille des plantules chez les 7 génotypes testés mais à des degrés différents.

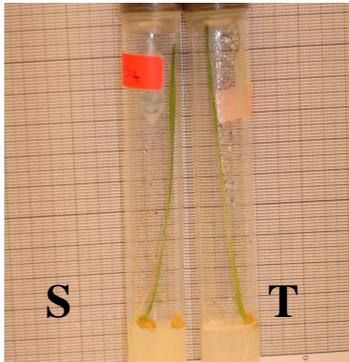
Aucun cas de contamination n'a été observé ce qui confirme que la technique de culture *in vitro* a été bien réalisée grâce au respect des conditions d'asepsie.

Au premier lot (témoin), les vitroplants ont une tige longue, des feuilles plus développées et plus larges que celles du traitement (-1MPa), chez lesquelles on a observé un roulement des feuilles avec déchirement et une érosion dans l'extrémité, des feuilles étroites et des racines plus nombreuses et plus longues (Planche.02-03).

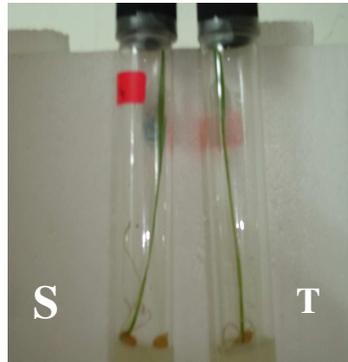
Chez les trois génotypes : DK, BEL et GGR., après 4 semaines de culture *in vitro* sous condition de stress hydrique (-1 MPa), aucune différence n'a pas été observée entre les plantules témoins et stressées, elles ont des tailles phénologiquement semblables à ceux des témoins (Planche. 02).

4 semaines après la culture, toutes les plantules préalablement soumises au PEG à 7% ont des tailles phénologiquement moins longues à ceux des témoins chez les génotypes B17, RAH, Vit et W, avec des feuilles très étroites, enroulées et déchirées à l'extrémité (Planche. 03).

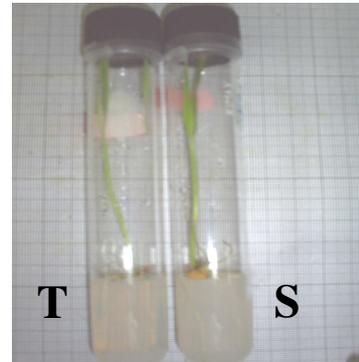
Planche. 02 :



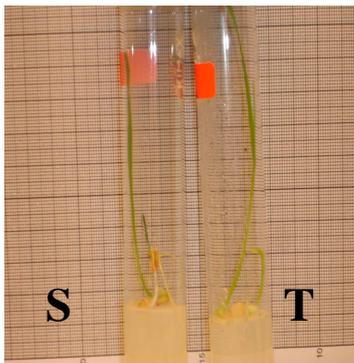
a₁ : DK après 15 J de culture *in vitro* (-1MPa)



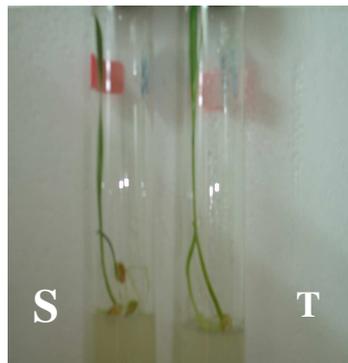
a₂ : DK après 21 J de culture *in vitro* (-1MPa)



a₃ : DK après 28 J de culture *in vitro* (-1MPa)



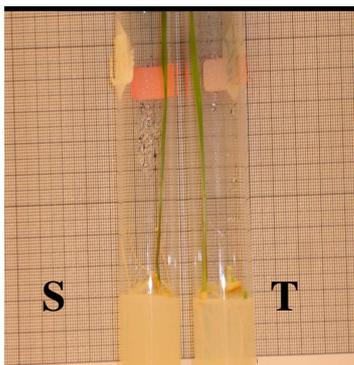
b₁ : BEL après 15 J de culture *in vitro* (-1MPa)



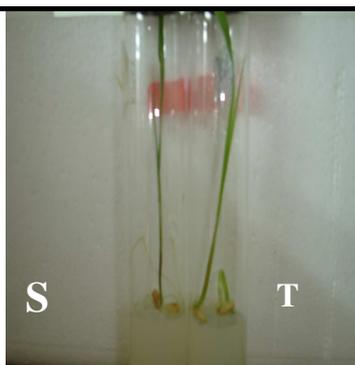
b₂ : BEL après 21 J de culture *in vitro* (-1MPa)



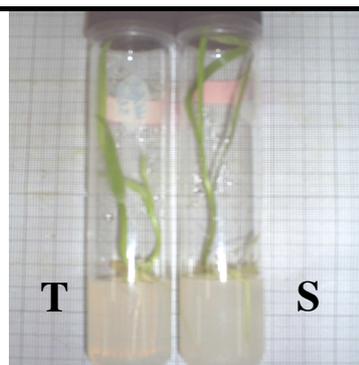
b₃ : BEL après 28 J de culture *in vitro* (-1MPa)



c₁ : GGR après 15 J de culture *in vitro* (-1MPa)

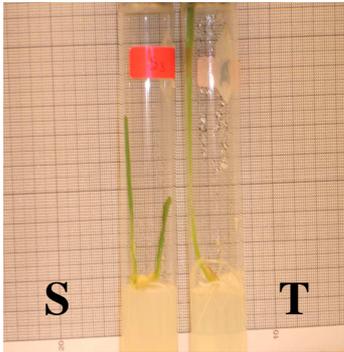


c₂ : GGR après 21 J de culture *in vitro* (-1MPa)

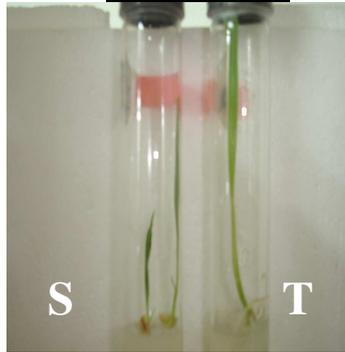


c₃ : GGR après 28 J de culture *in vitro* (-1MPa)

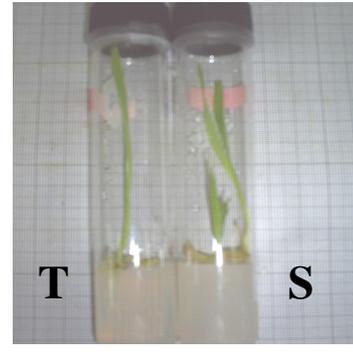
Planche. 03



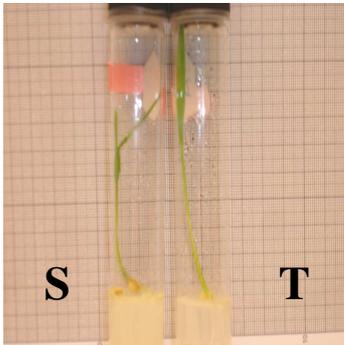
d₁ : B17 après 15 J de culture *in vitro* (-1MPa)



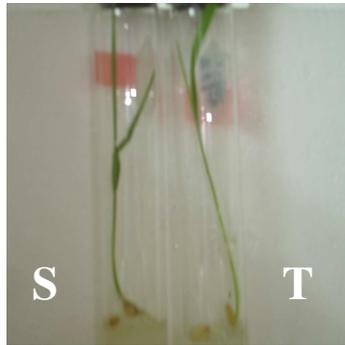
d₂ : B17 après 21 J de culture *in vitro* (-1MPa)



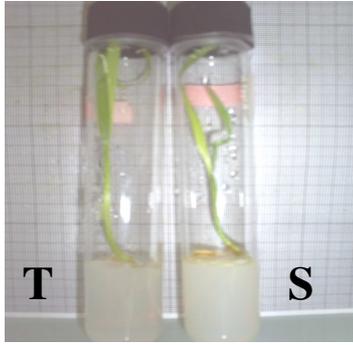
d₃ : B17 après 28 J de culture *in vitro* (-1MPa)



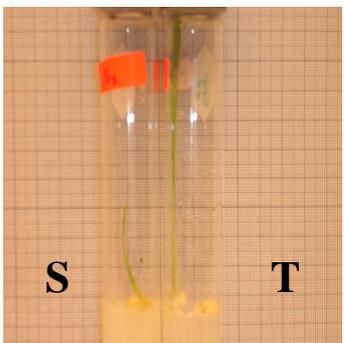
e₁ : RAH après 15 J de culture *in vitro* (-1MPa)



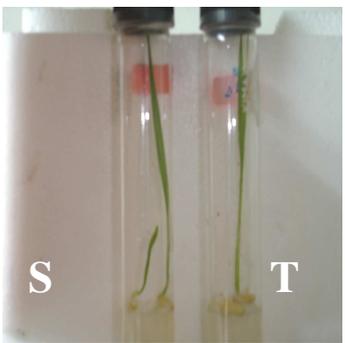
e₂ : RAH après 21 J de culture *in vitro* (-1MPa)



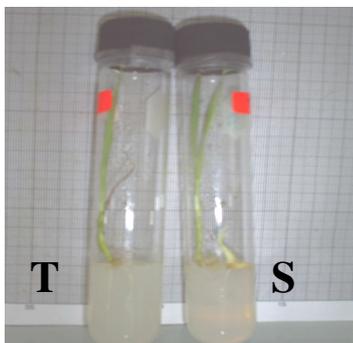
e₃ : RAH après 28 J de culture *in vitro* (-1MPa)



f₁ : Vit après 15 J de culture *in vitro* (-1MPa)



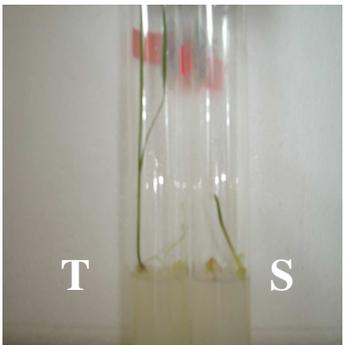
f₂ : Vit après 21 J de culture *in vitro* (-1MPa)



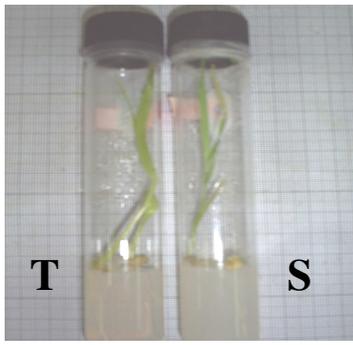
f₃ : Vit après 28 J de culture *in vitro* (-1MPa)



g₁ : W après 15 J de culture *in vitro* (-1MPa)



g₂ : W après 21 J de culture *in vitro* (-1MPa)



g₃ : W après 28 J de culture *in vitro* (-1MPa)

La taille des plantules peut être affectée par le PEG. Le stress hydrique a retardé le cycle de développement des plantes, a diminué la surface des feuilles et a réduit la taille des plantes (Thakur et Rai, 1982 ; LEPS., 2000). Ce qui a confirmé nos résultats. L'enroulement des feuilles, fréquent chez de nombreuses plantes cultivées (blé, sorgho) peut être considéré comme indicateur de perte de turgescence et en même temps un caractère d'évitement de la déshydratation (Hsiao et Bradford, 1984 in Zeghida et *al.*, 2004).

Les résultats de nombreux travaux effectués ont montré que les techniques de culture *in vitro* sont les plus adéquates pour la sélection de lignées cellulaires tolérantes au stress hydrique (Nabors et *al.*, 1980). Les variants sélectionnés à ce jour pour la tolérance au stress ont été obtenus par des méthodes de sélection fondées sur la mise en œuvre d'une pression sélective inhibant la croissance et tuant les cellules sensibles (Maliga, 1984). La pression sélective est obtenue en ajoutant le milieu de culture avec différentes concentrations en PEG. Les cellules tolérantes, identifiées par leur croissance ou leur survie en présence du PEG, la présence de l'agent stressant dans le milieu de régénération peuvent aussi augmenter la probabilité de régénérer des plantes tolérantes (Nabors et *al.*, 1980).

2. 2. Effet du stress sur la synthèse des protéines totales

L'analyse des protéines totales des racines et des feuilles de sept génotypes de blé dur par la technique d'électrophorèse (SDS-PAGE) a révélé par la coloration en bleu de coomacie un polymorphisme important des diagrammes électrophorétiques (Figure.16-18).

L'interprétation des résultats obtenus est basée sur le nombre, l'intensité et le poids moléculaire des bandes.

2. 2. 1. Effet du stress sur les protéines totales des racines

Les profils des protéines totales des racines de sept génotypes de blé dur étudiés, obtenus par SDS-PAGE révèlent des variations entre les génotypes témoins et stressés (Fig. 16), ils présentent des bandes de bonne résolution, comme celles des variétés GGR et W. Le nombre total des bandes polypeptidiques est de 31 bandes répertoriées (avec des PM différents), leur poids moléculaire varie de 16.257 à 93.551

KDa (Tab. 06). 14 bandes ont été observée aussi bien chez les témoins que chez les stressés, 10 bandes n'ont été observées que chez les témoins et 7 bandes sont apparues chez les stressés (Tab. 06)

Nous avons remarqué que les bandes polypeptidiques ayant le poids moléculaire de 97 à 36.71 KDa sont présents chez presque toutes les variétés des deux lots, à l'exception du génotype B17 qui ne présente que deux bandes (19.37 et 21,532) KDa (Fig16).

Les différences entre les génotypes témoins et leurs stressés se manifestent par des variations dans l'intensité des bandes. Dans le cas de la variété DKs une seule bande est présente (21.28 KDa) alors que son témoin présente un total de 8 bandes.

Le génotype B17s présente une totalité de 15 bandes fortement intenses qui varient de 93.55 à 19.97 KDa, tandis que le témoin enregistre seulement deux bandes (21.53 et 19.37 KDa) avec une faible intensité.

Chez les cinq autres variétés stressées (GGRs, RAHs, BELs, Vits, Ws), on remarque que certaines bandes sont présentes aussi bien pour les témoins que pour les stressées, d'autres sont absentes ou présentes chez les stressées et vis versa (Fig. 16).

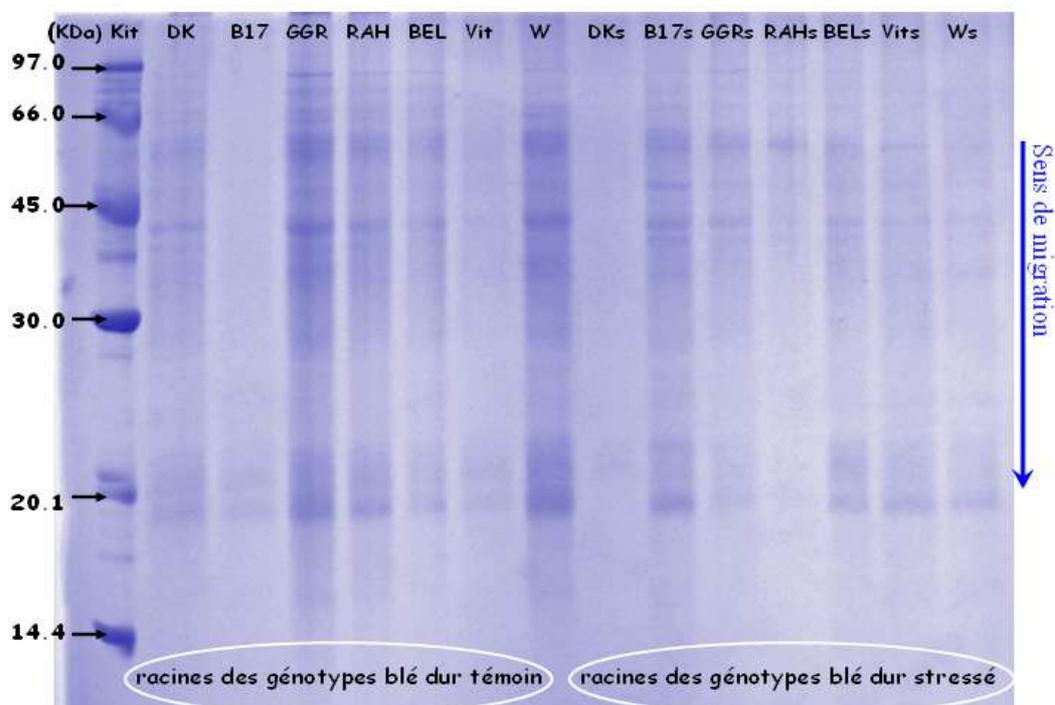


Fig.16 : Profil électrophorétique SDS-PAGE des protéines totales des racines des sept génotypes du blé dur soumis à un stress hydrique.



Tab. 06 : Diagramme présence absence des bandes dans les racines des sept génotypes de blé dur soumis à un stress hydrique.

PM(KDa)	DK	B17	GGR	RAH	BEL	Vit	W	DKs	B17s	GGRs	RAHs	BELs	Vits	Ws
93,551	1	0	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	0	0
83,415	1	0	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0
77,046	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
69,373	1	0	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1
65,148	1	0	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0
60,904	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0
58,39	0	0	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0
50,011	0	0	1	0	0	0	1	0	1	1	0	1	1	1
42,532	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
40,634	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0
38,25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
36,711	1	0	1	1	0	0	1	0	1	0	0	1	1	1
34,742	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
31,383	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
27,941	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
26,632	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
25,737	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
23,94	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1
22,405	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
22,194	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0
21,532	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
21,28	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
21,031	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0
20,847	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
19,972	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1
19,646	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
19,379	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
19,244	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16,561	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
16,257	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

1 : présence de bande ; 0 : absence de bande.

Les profils électrophorétiques des protéines totales des racines ont servi pour l'établissement d'un dendrogramme illustrant les relations entre les sept variétés du blé dur témoin et les mêmes variétés soumises à un stress hydrique (Fig. 16).

Ce dendrogramme a permis d'observer l'existence de 5 groupes A, B, C, D et E au niveau de 60% de similarité (Fig. 17).

Le premier groupe (A) regroupe les variétés (W, DK, GGR, RAH, BEL, B17s, GGRs, RAHs, BELs, Vits) qui présentent le plus grand nombre de bandes, il est divisé en trois sous groupes où le premier sous groupe A1 rassemble les génotypes stressés dont l'intensité des bandes est faible en comparaison avec ceux du deuxième sous groupe A2 qui rassemble les génotypes témoins. Ces deux sous groupes sont reliés avec le troisième sous groupe A3 représenté par la variété W dont le nombre de bandes est le plus élevé (18 bandes) et l'expression des bandes est la plus marquée. Les quatre autres groupes B, C, D, et E sont indépendants les uns des autres, le groupe (B) porte la variété B17, elle présente deux sous unités à faible poids moléculaire (Fig. 17). Le groupe (C) comprend la variété Vit qui présente 5 bandes, le génotype DKs représente le groupe (D) avec une seule bande de faible poids moléculaire, ce qui fait de lui le plus proche du groupe B (avec deux bandes). Ces trois derniers groupes représentent les variétés dont le nombre de bandes est inférieur aux autres (Fig. 17). Le dernier groupe E est représenté par la variété Ws avec 9 bandes, elle se rapproche des variétés du groupe A ayant le nombre le plus important des bandes (Fig. 17).

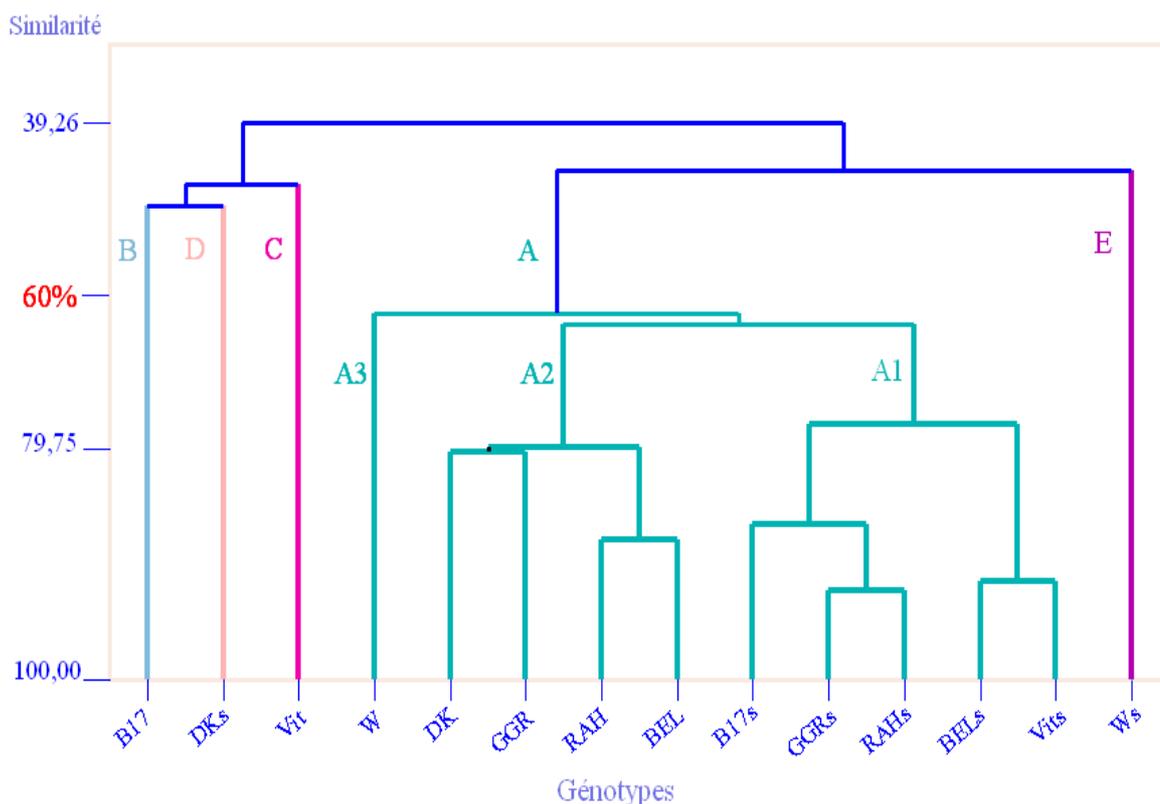


Fig. 17: Dendrogramme d'après les profils électrophorétiques des racines des sept géotypes du blé dur soumis à un stress hydrique.

2. 2. 2. Effet du stress sur les protéines des feuilles

L'analyse des gels obtenus révèle la présence de 30 bandes différentes aux poids moléculaires allant de 18.06 KDa à 99.14 KDa (Tab. 07). 13 bandes ont été observées aussi bien chez les témoins que chez les stressés, 7 bandes n'ont été observées que chez les témoins et 9 bandes sont apparues chez les stressés (Tab. 07)

La plupart des bandes situées dans la partie supérieure du gel représentent les bandes de haut poids moléculaire (Fig. 18). On observe la présence de la bande avec ce poids moléculaire 58.27 KDa chez tous les profils, néanmoins avec une intensité variante d'un profil à l'autre. En effet, une forte intensité est observée chez les variétés B17s, RAH et DKs.

On remarque la présence de certaines bandes aussi bien chez les témoins que les stressées, alors que d'autres sont présentes /ou absentes chez les stressées et les témoins. On remarque aussi que le nombre de bandes est plus élevé chez les stressées que chez les témoins.



Tab. 07 : Diagramme présence absence des bandes dans les feuilles des sept génotypes de blé dur soumis à un stress hydrique.

PM (KDa)	DK	B17	GGR	RAH	BEL	Vit	W	DKs	B17s	GGRs	RAHs	BELs	Vits	Ws
99,138	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
93,426	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1
82,942	0	0	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1
74,324	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
66,834	1	0	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0
66	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
64,832	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
58,265	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
56,367	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0
55,99	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
51,921	0	1	0	1	0	1	1	1	0	0	1	0	1	0
50,125	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
44,133	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
42,117	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
41,831	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
37,912	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	1	0	1	1
36,57	0	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1	0	1	0
34,76	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
26,635	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
25,579	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
23,958	0	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1	0	1	0
23,504	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
21,386	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0
20,976	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20,629	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
20,04	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
19,979	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0
19,669	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
18,411	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	1	0
18,061	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

1 : présence de bande ; **0** : absence de bande.

Les bandes chez les quatre variétés B17s, DKs, GGRs et Vits en condition de stress sont fortement marquées et plus nombreuses que ceux de leurs témoins. Par contre les deux variétés RAH et W, présentent des bandes plus marquées et plus nombreuses dans le premier lot (témoin) que dans le deuxième lot (stressé). Alors que la variété BEL enregistre le même nombre de bandes dans les deux lots (témoin et stressé) avec des poids moléculaires différents sauf pour les bandes dont le poids moléculaire est 19.67 et 82.94KDa. La sous unité a eu le poids moléculaire 82.94 KDa est présente dans les sept variétés en condition de stress (Fig. 18).

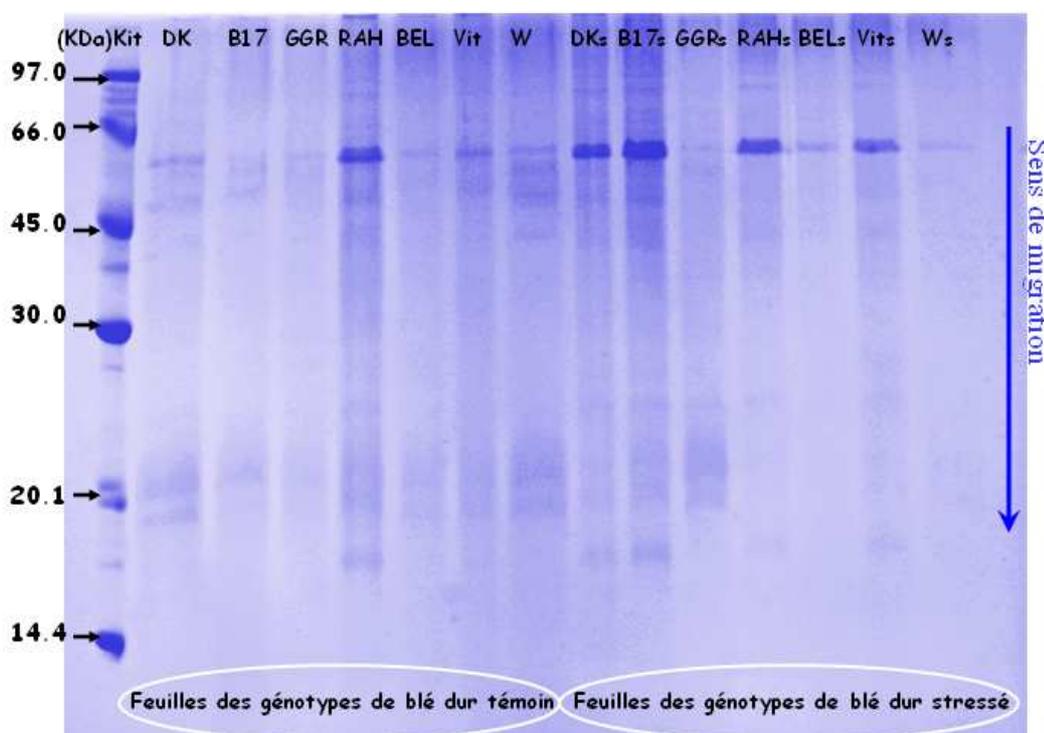


Fig.18 : Profil électrophorétique SDS-PAGE des protéines totales des feuilles des sept génotypes du blé dur soumis à un stress hydrique.

Les profils électrophorétiques de protéines totales des feuilles ont servi pour l'établissement d'un dendrogramme illustrant la relation des sept génotypes de blé dur témoins et stressés (Fig. 19).

À partir du dendrogramme obtenu par l'analyse hiérarchique, on observe l'existence de 5 groupes au niveau de 60% de similarité (Fig. 19). La distribution des variétés est basée sur le nombre et la mobilité des bandes.

Le premier groupe (A) regroupe la plupart des variétés témoins (DK, B17, GGR, BEL) ayant un nombre de bandes de haut poids moléculaire inférieur à 7. Ce groupe se subdivise à lui-même en deux sous groupes dont le premier (A1) regroupe les deux génotypes DK et BEL qui présentent les mêmes sous unités 19.67 et 58,27 KDa, le deuxième (A2) porte les deux variétés B17 et GGR associées par trois sous unités de poids moléculaires (82.94, 66.83 et 58.27) KDa. Le groupe (B) regroupe les variétés (RAH, Vit, BELs, Ws) qui présentent une similitude de bandes (58.26KDa), il est divisé en deux sous groupes dont le premier sous groupe B1 porte le génotype RAH dont l'intensité des bandes est assez forte en comparaison avec ceux du deuxième sous groupe B2, qui regroupe la variété Vit et les deux variétés BELs et Ws. Ces dernières présentent des bandes avec une faible intensité et sont donc très proche. Le troisième groupe A3 est formé uniquement avec la variété W dont le poids moléculaire de bandes est inférieur à 58,27 KDa. Le groupe quatre (D) regroupe trois génotypes stressés (DKs, RAHs et Vits) leurs nombres de bande est supérieur à 9. Il est subdivisé en deux sous groupes dont l'un D1 renferme les deux variétés DKs et RAHs l'autre sous groupe D2 comporte la variété Vits. Ces trois derniers groupes représentent les variétés dont le nombre de bandes est inférieur aux autres (Fig. 38). Le dernier groupe E regroupe les variétés B17s et GGRs qui présentent une similitude des sept bandes (74.32, 64.83, 58.26, 36.57, 23.95, 21.38 et 19.97 KDa) (Tab. 07). Ils sont complètement éloignés des autres variétés.

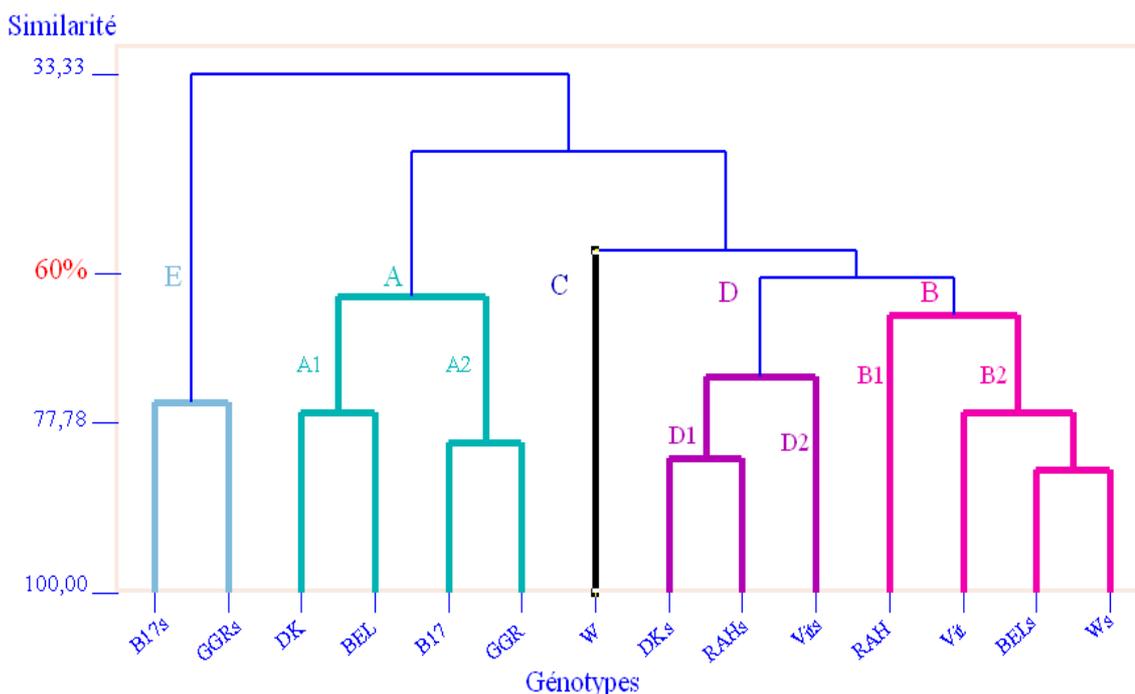


Fig. 19 : Dendrogramme d'après les profils électrophorétiques des feuilles des sept géotypes du blé dur soumis à un stress hydrique.

L'évaluation de nombre des bandes par SDS-PAGE indique qu'après un stress hydrique 12 bandes protéiques sont apparues chez le blé dur. Dans certains géotypes quelques nouvelles bandes apparaissent et d'autre disparaissent (Farshadfar et *al.*, 2008). L'augmentation de l'intensité des bandes est le résultat de l'augmentation des protéines (Jasso *et al.*, 2002).

Ghasempour et *al.*, (2007) in Farshadfar et *al.*, (2008) annoncent qu'au cours d'un stress hydrique les feuilles de blé dur augmentent leurs teneurs en protéines solubles à faible poids moléculaire plus que les protéines à haut poids moléculaire.

Riccardi et *al.*, (1998) in Temagault, (2009) ont analysé par électrophorèse bidimensionnelle les protéines foliaires chez deux lignés recombinantes de maïs l'une tolérante à la sécheresse et l'autre sensible. Parmi les 78 protéines étudiées le stress a affecté l'expression de ces derniers, 23 protéines ont été partiellement inhibées, 40 ont été surexprimées, 10 n'ont été visibles que chez les individus stressés et 5 renseignent sur une interaction géotype x environnement. Le changement dans l'expression des protéines est l'un des résultats de la modification du métabolisme lors d'un stress chez les plantes (Jangpromma, 2007).



En effet, certaines protéines perdent leur configuration native (fonctionnelle) et en tendance à s'agréger. Ce phénomène est réversible jusqu'à un certain seuil au-delà du quel, il devient irréversible et se généralise dans la cellule qui meurt finalement (Parsell et Lindquist, 1993; Gottesman, 1998; in Mary, 2003). D'autre part, on observe une activation d'un certain nombre de protéines de stress (Georgopoulos et *al.*, 1994 ; Hecker et *al.*, 1996 ; Morimoto, 1998 in Mary, 2003).

Conclusion et Perspectives

Conclusion et perspectives

L'étude de la réponse au stress hydrique chez les sept variétés de blé dur testées révèle l'existence d'une grande variabilité pour la plupart des paramètres mesurés. L'effet du stress hydrique est bien marqué entre les génotypes témoins et leurs stressés dans les deux expérimentations.

Lors du premier essai conduit sous serre, nous avons étudié la réponse de ces sept variétés de blé dur au stress hydrique (100, 80, 50, 25 et 12.5 % de CC), par analyse comparative de quelques paramètres morphologiques, physiologiques et biochimiques. On a pu observer une diminution de la surface de la feuille, de la teneur relative en eau, du taux de la déperdition d'eau et du taux de chlorophylle totale, d'autre part, la résistance stomatique a été augmenter alors que le rendement quantique du PSII n'a pas été affectée par le stress hydrique. Une forte accumulation de la proline et des sucres solubles.

L'analyse statistique renseigne sur une corrélation positive très hautement significative entre : la surface foliaire et la TRE ($r = 0.537^{***}$), la surface foliaire et le TDE ($r = 0.650^{***}$), la TRE et le taux de la chlorophylle totale ($r = 0.588^{***}$) et entre la teneur relative en eau et le taux de la déperdition d'eau ($r = 0.670^{***}$). De même une corrélation très hautement significative entre les paramètres biochimiques (proline et sucres solubles) a été révèlé ($r = 0.73$) (Annexe. 07).

La deuxième partie a consisté a porte sur l'étude *in vitro* des modifications induites par un stress hydrique de -1 MPa sur l'expression des protéines foliaires et racinaires par électrophorèse sur gel de polyacrylamide en condition dénaturantes (SDS-PAGE).

L'analyse des gels obtenus a permis la détection de visualiser protéines dont l'expression était modifiée par le stress. Au total de 61 bandes différentes d'un poids moléculaire allant de 16.2 KDa à 99.1 KDa ont été observées. Certaines d'entre elles sont observées aussi bien chez les témoins que chez les stressés, d'autres sont réprimées alors que les bandes (40.634, 38.25, 30, 22.405, 22.19, 21.28 et 19.792 KDa /racines) et (99.138,

74.324, 64.832, 44.133, 42.117, 34.76, 23.504, 19.979 et 18.411 KDa / feuilles) ont été induites.

Cette approche biotechnologique à savoir SDS *in vitro* constitue un complément aux approches morpho physiologiques et biochimiques du premier essai.

Les résultats d'accumulation des sucres solubles, la proline, et les diagrammes électrophorétiques des protéines totales permettent de conclure que le stress hydrique modifie la composition biochimique des organes.

En fin, l'étude a montré que les sept génotypes étudiés ont utilisé les mêmes stratégies de la réponse au stress hydrique mais avec des fréquences différentes. Ces critères peuvent être utilisés comme paramètres de sélection et d'amélioration du rendement de blé dur dans les régions sèches.

Dans le cadre d'un travail futur, il serait souhaitable :

-  d'appliquer cette étude sur plusieurs stades de cycle de vie.
-  Vérifier les résultats sur champ.
-  Utiliser plusieurs variétés.
-  d'étudier le rendement.
-  de compléter le travail par des études de biologie moléculaire pour identifier les gènes responsables.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Abeledo L.G., Savin R., Gustavo A. & Slafer. 2008.** Wheat productivity in the Mediterranean Ebro Valley: Analyzing the gap between attainable and potential yield with a simulation model. *Europ. J. Agronomy*. **28**. 541-550p.
- Albouchi A., Sebei H., Mezni M. Y. & EL Aouni M. H. 2000.** Influence de la durée d'une alimentation hydrique déficiente sur la production de biomasse, la surface transpirante et la densité stomatique d'*Acacia cyanophylla*. *Annales de l'INRGREF*. **4** : 138- 61p.
- Amokrane A., Bouzerzour H., Benmahammed A. & Djekoun A. 2002.** Caractérisation des variétés locales, syriennes et européennes de blé dur évaluées en zone semi-aride d'altitude. Sciences et Technologie. Univ. Mentouri. Constantine. N° spécial D:33 -38 p.
- Anonyme. 1999.** Cahier de références techniques : Micro propagation pour l'entreprise sericole CIDES.
- Anonyme. 2002.** Conseil international des céréales. International Grains Council. *World Grains Statistics*: 13-17 p.
- Anonyme. 2006.** Les marchés mondiaux du blé. *USDA*. http://www.agpb.com/fr/dossier/eco/marchesmondiaux_2006.pdf. (25.05.2008/11:37).
- Anonyme a. 2006.** Re: Avant 1830 l'algerie exportait son blé au monde entier mais 132 ans de colonialisme et apres l'algerie importe du blé, á qui la faute ? C'est clair. <http://newsgroups.derkeiler.com/pdf/Archive/Soc/soc.culture.algeria/2006-02/msg00013.pdf>. (31/05/2008/14:00).
- Anonyme. 2008.** L'Algérie couvre seulement 25 % de ses besoins en céréales. <http://www.liberte-algerie.com/edit.php?id=102098&titre=L'Algérie%20couvre%20selement%2025%%de%20ses%20en%20céréales>(29.10.2008)
- Bagga A.K., Ruwal K.N. & Asana R.D. 1970.** Comparison of some Indian and semi-dwarf Mexican wheat to unirrigated cultivation. *Indian J. agric. Sci.* **40**: 421- 427 p.
- Bajji M. 1999.** Étude des mécanismes de résistance au stress hydrique chez le blé dur : caractérisation de cultivars différant par leurs niveaux de résistance à la sécheresse et de variants somaclonaux sélectionnés *In vitro*. Thèse de doctorat. Univ . Louvain.
- Bajji M., Lutts S. & Kinet J-M. 2001.** Water deficit effects on solute contribution to osmotic adjustment as a function of leaf ageing in three durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars performing differently in arid conditions. *Plant Sci.* **160** : 669 -681p.
- Barrs H. 1968.** Determination of water deficit in plant tissues. In: *Water Deficit and Plant Growth*. **Koslowski T.** *Academy Press*. New York. 235-368 p.
- Bauer D., Biehler K., Fock H., Carrayol E., Hirel B., Migge & Becker T. W. 1997** .A role for cytosolic glutamine synthetase in the remobilization of leaf nitrogen during water stress in tomato. *Physiologia Plantarum*. **99** : 241 - 248 p.



- Baziz K. 2004.** La culture *In vitro* appliqué aux rosiers : Micropropagation de *Ros canina*. L. Thèse de Magistère. Univ. Constantine.
- Bellinger Y., Bensaoud A. & Larher F. 1991.** Physiological significance of proline accumulation, a trait of use to breeding for tress tolerance. Colloque Physiology-Breeding of winter Cereals for Stressed Mediterranean Environments, Montpellier (France). *Les colloques* .55. (éd). Inra. Paris.
- Ben Naceur M., Gharbi M.S. & Paul R. 1999.** L'amélioration variétale et les autres actions contribuant à la sécurité alimentaire en Tunisie en matière de céréales. *Sécheresse*.10 :27- 33 p.
- Ben Salem M., Boussen H. & Slama A. 1997.** Évaluation de la résistance à la contrainte hydrique et calorique d'une collection de blé dur : recherche de paramètres précoces de sélection. Sixièmes Journées scientifiques du réseau Biotech.-Génie Génétique des plantes, Agence francophone pour l'enseignement supérieur et la recherche (AUPELF / U R E F). Orsay. *Sécheresse*. 2 : 75- 83 p.
- Bensari M., Calme S.J. & Viala G. 1990.** Répartition du carbone fixé par photosynthèse entre l'amidon et le saccharose dans la feuille de soja : influence d'un déficit hydrique : *Plant phisiol. Biochimie*. 28 : 113-124 p.
- Bergareche C., Llusia J., Febrero A., Bort J. & Araus J.L. 1993.** Effect of water stress on proline and nitrate content of barley relationships with osmotical potential, carbon isotope ratio and grain yield. Colloque Diversité génétique et amélioration variétale. Montpellier (France). *Les colloques*.64. (éd). Inra. Paris.
- Bernard R. 2006.** L'eau et la vie. (éd).Dauphin. Paris : 13- 59 p.
- Blomstedt C.K., Gianello R.D., Gaff D.F., Hamill J.D. & Neale A.D. 1998.** Differential gene expression in desiccation-tolerant and desiccation-sensitive tissue of the resurrection grass, *Sporobolus stapfianus*. *Australian J Plant Physiol*. 25: 937 - 946 p.
- Blum A. 1996.**Crop responses to drought and the interpretation of adaptation plant growth regulation. 20: 135 - 148 p.
- Bootsma A., Boisvert J.B., Dejong R. & Baier W. 1996.** La sécheresse et l'agriculture canadienne. *Sécheresse* : 277 - 285 p.
- Bousba R., Ykhlef N. & Djekoun A. 2009.** Water use efficiency and flag leaf photosynthetic in response to water deficit of durum wheat (*Trticum durum Desf*).*World Journal of Agricultural Sciences* 5. 5: 609 -616 p.
- Boyer J.S. 1982.** Plant productivity and environment. *Sci*, New series. 218: 443 - 448 p.
- Bozzini A. 1988.** Origin, distribution and production of durum wheat in the world. In **Fabriani G. & Lintas C.** (éd). *Durum: Chemistry and Technology*. AACC (Minnesota). Etats-Unis : 1-16 p.
- Braam J., Sistrunk M., Polisensky D.H., Xu W., Purugganan M.M., Antosiewicz D.M., Campbell P. & Johnson K.A .1997.** Plant responses to environmental stress: regulation and functions of the Arabidopsis TCH genes. *Planta*. 203 : 35 - 41 p.



- Brisson N. & Delecolle R. 1992** .Utilisation des modèles mécanistes de la culture comme outils de raisonnement de la composante génétique de la résistance à la sécheresse. in : **Monneveux P., Ben Salem M.** *Tolérance à la sécheresse des céréales en zone méditerranéenne*. Colloque Diversité génétique et amélioration variétale. *Les colloques*. **64**. (éd). Inra. Paris.
- Cai H., Biswas D.K., Shang A.Q., Zhao L.J. & Li W.D. 2007**. Photosynthetic response to water stress and changes in metabolites in *Jasminum sambac*. *PHOTOSYNTHETICA* **45**. **4**: 503 - 509 p.
- Campalans A.; Messeguer R., Goday A. & Pagès M. 1999**. Plant responses to drought, from ABA signal transduction events to the action of the induced proteins. *Plant Physiol. Biochem.* **37**. **5**: 327 - 340 p.
- Campbell S.A. & Close T.J. 1997**. Dhydrins :genes,proteins and association with phenotypic traits. *New phytol* .**137**: 61 - 74 p.
- Cechin I., Rossi S.C., Oliveira V.C. & Fumis T.F. 2006**. Photosynthetic responses and proline content of mature and young leaves of sunflower plants under water deficit. *PHOTOSYNTHETICA* .**44** (1): 143-146p.
- Chaib G. 1998**. Teneur en proline chez les différents organes de blé dur (*Triticum durum Desf*) : Essai d'explication des conditions d'accumulation sous manque d'eau. Thèse de magister. Univ. Constantine.
- Chaise L., Ferla A. J., Honore A. & Moukhli R. 2005**. L'impact du changement climatique sur l'agriculture en Afrique. Atelier Changement Climatique. ENPC.
- Cheftel J.C. & Cheftel H. 1992**. Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments.V1. *Tec & Doc*. Paris .Lavoisier : 381 p.
- Chellali B. 2007**. Marché mondial des céréales : L'Algérie assure sa sécurité alimentaire. <http://www.lemaghreb.dz.com/admin/folder01/une.pdf>. (31.05.2008).
- Christensen M.G., Teicher H.B. & Streibig J.C.2003**. Linking fluorescence induction curve and biomass in herbicide screening. *Pest Manag. Sci.* **59**: 1303-1310 p.
- Clarck & Mac-Caig. 1982**. Excised leaf water relation capability as an indicator of drought resistance of *Triticum* genotypes. *Can.J. Plant Sci* . **62**: 571-576 p.
- Clark J.M., Norvell W.A., Clark F.R. & Buckley T.W. 2002**. Concentration of cadmium and other elements in the grain of near-isogenic durum lines. *Can. J. Plant Sci./Revue canadienne de phytotechnie*. **82** : 27-33 p.
- Close T.J. 1996**. Dehydrins : emergence of a biochemical role of a family of plant dehydration proteins. *Physiol Plant*. **97** :795 - 803 p.
- Cornic G. & Fresneau C. 2002**. Photosynthetic carbon reduction and carbon oxidation cycles are the main electron sinks for photosystem II activity during a mild drought. *Ann. Bot.* **89**: 887- 894 p.



- Creelman R.A & Mullet J.E. 1991** .Water deficit modulates gene expression in growing zones of soybean seedlings. Analysis of differentially expressed cDNAs, a new β -tubulin gene, and expression of genes encoding cell wall proteins. *Plant Mol Biol* .**17**: 591- 608 p.
- Crowe J.H., Hoekstra F.A. & Crowe L.M. 1992**. Anhydrobiosis. . *physiol*. **54**.579-599 p.
- Cushman J.C. & Bohnert H. 2000** .Genomic approaches to plant stress tolerance. *Cur Opin Plant Biol* . **3**: 117 - 124 p.
- De Leonardis A.M.D., Marone D., Mazzucotelli E., Neffar F., Rizza F., Fonzo N.D., Cattivelli L. & Mastrangelo A.M. 2007**. Durum wheat genes up-regulated in the early phases of cold stress are modulated by drought in a developmental and genotype dependent manner. *Plant Sci*. **172** : 1005 -1016 p.
- Debaeke P., Cabelguenne M., Casals ML. & Puech J. 1996**. Élaboration du rendement du blé d'hiver en conditions de déficit hydrique. II. Mise au point et test d'un modèle de simulation de la culture de blé d'hiver en conditions d'alimentation hydrique et azotée variées. *Epicphase-blé. Agronomie*.**16**: 25 - 46 p.
- Deepika M. & Anil G. 1999**. Transcript levels of genes encoding various glycolytic and fermentation enzymes change in response to abiotic stresses. *Plant Sci* .**146**: 41 - 51 p.
- Déjardin A., Sokolov L.N. & Kleczkowski L.A. 1999** .Sugar/osmoticum levels modulate differential abscisic acid-independent expression of two stress-responsive sucrose synthesis genes in *Arabidopsis*. *Biochem J* . **344**: 503 -509 p.
- Dicko M. H. 2006**. Travaux pratique biochimie structurale et enzymologie. Centre de Recherche en Sciences Biologiques Alimentaires et Nutritionnelles. Univ. Ouagadougou.
- Dixon R. & Paiva N. L. 1995**. Stress - induced phenylpropanoid metabolism. *The plant cell* .**7**: 1085 - 1097 p.
- Djekoun A. & Planchon C. 1991**. Tolerance to leaf water potential in soybean genotypes. *Euphytica*. **55**: 247 - 253 p.
- Djekoun A. & Planchon C. 1992**. Stomatal conductance photosynthesis and acetylene reduction rate in Soybean genotypes. *Can. J.Plant sci*.**72**: 383 - 390 p.
- Djekoun A. & Ykhlef N. 1996**. Déficit hydrique, effets stomatiques et non-stomatiques et activité photosynthétique chez quelques génotypes de blé Tétraploides.3ème Réunion du réseau SEWANA, de blé dur IAV HASSAN II (Maroc).
- Dubois M., Gilles K.A., Hamilton P.A., Ruberg A. & Smith F. 1956**. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*.**28.3**:350-356p.
- Dubos C. 2001**. Réponse moléculaire de jeunes plants de pin maritime soumis à un stress hydrique en milieu hydroponique. Thèse de doctorat. Univ. Henri Poincaré, Nancy-I. France.
- Dure L. 1993**. Structure motifs in LEA proteins of higher plants, in: Close **T.J., Bray E.A.** Response of Plants to Cellular Dehydration during Environmental Stress, *American Society of Plant Physiologists*, Rockville: 91 - 103 p.

- El hassani T.A. & Persoons E. 1994.** Agronomie moderne. Bases physiologiques et agronomiques de la production végétale. (éd). *AUPELF-UREF* : 544 p.
- El Jaafari S. 1993.** Contribution à l'étude des mécanismes biophysiques et biochimiques de résistance à la sécheresse chez le blé. Thèse de doctorat. Univ. Gembloux. Belgique: 214p.
- Eliane Cristina G.V., Ivan S., Marcos P., Carlos A.S., Hugo Bruno C.M., Celso J.M. & Ellis R.J. 2007.** The molecular chaperone concept. *Semin. Cell Biol.* **1**: 1 - 9 p.
- Erchidi A.E., Benbella M. & Talouizte A. 2000.** Relation entre certains paramètres contrôlant les pertes en eau et le rendement en grain chez neuf variétés de blé dur soumises au stress hydrique. Options méditerranéennes. Série A (Séminaires méditerranéens). **40** : 279 - 82 p.
- FAO. 2007.** Perspective alimentaires. Analyse des marchés mondiales. <http://www.fao.org/01/0/ah864f/ah864f00.htm>. (31.5.2008/13:28).
- Farshadfar E., Ghascmpour & Vaezi. 2008.** Molecular Aspectsof drought tolérance in Bread Wheat (*T.aestivum*).Pakistan Journal of *Biological Sciences* **11.1**: 118-122 p.
- Feillet P. 2000.** Le grain de blé : composition et utilisation. *INRA*. Paris.
- Feldman M. 1976.** Taxonomic Classification and Names of Wild, Primitive, Cultivated, and Modern Cultivated Wheats. Dans : Simmonds, N.W. (éd)., *Evolution of Crop Plants*. Longman, Londre: 120-128 p.
- Feldman M. 2001.** Origin of Cultivated Wheat. In **Bonjean A.P. et W.J. Angus.** (éd.). *The World Wheat Book: a history of wheat breeding*. Intercept Limited. Andover. Angleterre : 3-58 p.
- Ferryra R., Sellés G., Ruiz R.S. & Sellés I.M. 2004.** Effect of water stress induced at different growth stages on grapevine cv. Chardonnay on production and wine quality. *Acta Hort.* **664**: 233- 236p.
- Gate P., Bouthier A., Casabianca H. & Deleens E. 1993.**Caractères physiologiques décrivant la tolérance à la sécheresse des blés cultivés en France : interprétation des corrélations entre le rendement et la composition isotopique du carbone des grains. Colloque Diversité génétique et amélioration variétale Montpellier (France). *Les colloques.* **64**.Inra . Paris.
- Geigenberger P., Reimholz R., Geiger M., Merlo L., Canale V. & Stitt M . 1997.** Resolution of sucrose and starch metabolism in potato tubers in responseto short-term water deficit. *Planta.* **201**: 502 -518 p.
- Giardi M.T., Cona A.B., Geiken T., Kucera J., Masoj'idek A.K. & Mattoo. 1996.** Long-term drought stress induces structural and functional reorganization of Photosystem II. *Planta.* **199**: 118-125 p.
- Gonzalez A., Martin I. & Ayerbe L. 1999.** Barley yield in water stress conditions. The influence of precocity, osmotic adjustment and stomatal conductance. *Field Crop Res* .**62**: 23 -34 p.



- Granier C., Inzé D. & F. Tardieu. 2000.** Spatial distribution cell division rate can be deduced from that of P34cdc2 kinase activity in maize leaves grown in contrasting conditions of temperature and water status. *Plant Physiol.* **124**:1393-1402 p.
- Guettouche R. 1990.** Contribution à l'identification des caractères morpho physiologiques d'adaptation à la sécheresse chez le blé dur (*Triticum durum Desf*). Thèse diplôme d'agronomie approfondie.
- Hadjichistodoulou A. 1985.** Stability performance of cereals in low rainfall areas as related to adaptative traits. in : *drought tolerance in winter cereals*. **Srivastava J.P., Porceddu E., Acevodo E., Varma S.**(éd).John Wiley and sons.UK: 191 -200 p.
- Hare P.D. & Cress W.A. 1997.** Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. *Plant cell and environment.* **21**: 535 - 553 p.
- Heitholt J.J., Johnson D.M. & Ferris. 1991.** Stomatal limitation to carbon dioxide assimilation in nitrogen-and drought-stressed wheat. *Crop Sci.* **31**: 135 -139 p.
- Herbinger K., Tausz M., Wonisch A., Soja G., Sorger A. & Grill D. 2002 .** Complex interactive effects of drought and ozone stress on the antioxidant defence systems of two wheat cultivars. *Plant Physiol. Biochem.* **40**: 691 - 696 p.
- Hikosaka K., Ishikawa K., Borjigidai A., Muller O. & Onoda Y. 2006.** Temperature acclimation of photosynthesis: mechanisms involved in the changes in temperature dependence of photosynthetic rate. *J. Exp. Bot.* **57** : 291-302 p.
- Hireche. 2006.** Répense de la luzerne *Medicago sativa* (L) au stress hydrique et à la profondeur du semis. Thèse de Magister.Univ. *EL Hadj Lakhdar*. Batna :83 p.
- Hsissou D. 1994.** Sélection *In vitro* et caractérisation de mutants de blé dur tolérants à la sécheresse. Thèse de doctorat. Univ. Catholique de Louvain.
- INRA. 2000.** La résistance des plantes à la sécheresse. Centre de Montpellier.
- Jangpromma N., Kitthaisong S., Daduang S., Jaisil P. & Thammasirirak S. 2007.** 18 KDa protein accumulation in sugarcane leaves under drought stress conditions. *kmitl .Sci. Tech. J.7*: 27- 44 p.
- Jasso D., De Rodriguez., Romero-Garcia J., Rodriguez-Garcia R. & Sanchez J. L. 2002.**Characterisation of proteins from sunflower leaves and seeds: Relationship of biomass and seed yield. *Trends in new crops and new uses*. ASHS Press. Alexandria. VA.
- Jeanet R., Croguennec T., Schuck P. & Brulé G. 2006.** Science des aliments : Biochimie- Microbiologie- Procédés- Produits. V2. Technologie des produits alimentaires. (éd).TEC & DOC. Paris.
- Jones H.G., Flowers T.J. & Jones M.B. 1989.** Plants Under Stress. Univ. Cambridge.
- Kimber G. & Sears E.R. 1987.** Evolution in the Genus *Triticum* and the Origin of Cultivated Wheat. Dans : **Heyne E.G.** (éd), *Wheat and Wheat Improvement*. American Society of Agronomy, Madison (WI): 31 p.

- Kirkham M.B., Smith E.L., Danasobhon C. & Draket T.I. 1980.** Resistance to water loss of winter wheat flag leaves. *Cer. Res. Commun.* **8**: 393 p.
- Krause G.H & Weis E. 1991.** Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. *Ann. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **42**: 313 -349 p.
- Kumar R.G. & Dubey R.S. 1999.** Glutamine synthetase isoforms from rice seedlings: effects of stress on enzyme activity and the protective roles of osmolytes. *J Plant Physiol.* **155**: 118 - 121 p.
- Laberche J-C . 2004.** La nutrition de la plante In *Biologie Végétale. Dunod.* 2^e (éd). Paris: 154 -163 p.
- Lebon E., Pellegrino A., Tardieu F. & Lecoeur J. 2004.** Shoot development in grapevine is affected by the modular branching pattern of the stem and intra and inter-shoot trophic competition. *Annals of Botany.* **93** : 263 -274 p.
- Leclerc J.C. 1999.** Ecophysiologie végétale. Publication de l'université de Saint Etienne. Paris: 283 p.
- LEPS. (Laboratoire d'Ecophysiologie des Plantes sous stress environnementaux). 2000.** La résistance des plantes à la sécheresse. INRA. Montpellier.
- Levitt J. 1980.** Responses of plants to environmental stresses. *Academic Presse*, New York.
- Lev-Yadun S., Gopher A. & Abbo S. 2000.** The cradle of agriculture. *Science.* **288** : 1602-1603p.
- Loretti E., De Bellis L., Alpi A. & Perata P. 2001.** Why and how do plant cells sense sugars? *Ann Bot* **88** : 803 - 812 p.
- Louvieux J. 2007.** Mesure de l'efficacité d'extraits d'algues sur la vigne (*Vitis vinifera* L.), en conditions contrôlées et au vignoble, validée par la mesure de l'activité photosynthétique et les analyses chimiques. Mémoire On Line. Univ. Libre .Bruxelles (ULB).
- Lu C. & Zhang J. 1998.** Effects of water stress on photosynthesis, chlorophyll fluorescence and photoinhibition in wheat plants. *Aust. J. Plant Physiol.* **25**: 883 - 892 p.
- Madhava Rao K.V., Raghavendra A.S. & Janardhan Reddy K. 2006 .** Printed in the Netherlands. *Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants. Springer:* 1-14 p.
- Maggio A., Bressan R.A., Hasegawa P.M. & Locy R.D. 1997.** Moderately increased constitutive proline does not alter osmotic stress tolerance. *Physiologia Plantarum.* **101** : 240 - 246 p.
- Maliga D. 1984.** Isolation and characterisation of mutant in plant cell culture *.Plant Physiol.* **35**: 510 -524 p.
- Mary I. 2003.** Mécanismes moléculaires de la réponse aux stress environnementaux chez la cyanobactérie marine *prochlorococcus*. *Biologie .Univ. Rennes* :147p.



- Maurel C. & Chrispeels M.J. 2001.** Aquaporins: a molecular entry into plant water relations. *Plant Physiol.* **125**:135 –138 p.
- McCubbin W.D. & Kay C.M. 1985.** Hydrodynamic and optical properties of the wheat Em protein. *Can J Biochem.* **63**: 803 - 810 p.
- Money N.P. 1989.** Osmotic pressure of aqueous polyethylene glycols: relationship between molecular weight and vapour pressure deficit. *Plant Physiol.* **91**: 766 - 769 p.
- Monneveux P. 1991.** Quelles stratégies pour l'amélioration génétique de la tolérance au déficit hydrique des céréales d'hiver. In : *l'amélioration des plantes pour l'adaptation au milieu arides.* (éd). *Aupelf-Uref. J. Eurotxt.L.* Paris: 165 -186 p.
- Mouhouche B. & Boulassel A. 1997.** Gestion rationnelle des irrigations des compléments des cultures de légumineuses alimentaires et céréales. *Recherche agronomique. INRA.1*:21-31p.
- Nabors M. W., Gibbs S. E., Bernstein C. S. & Meis M. E. 1980.** NaCl . Tolerant tobacco plants from cultured cells. *Z. Pflanzenphysiol.* **9**: 13- 17 p.
- Nouri L. 2002.** Ajustement osmotique et maintien de l'activité photosynthétique chez le blé dur (*Triticum durum*, Desf), en condition de déficit hydrique. Thèse de Magistère en Biologie végétale Univ *Mentouri.* Constantine. 77p.
- Nouri L., Ykhlef N. & Djekoun A. 2002.** Ajustement osmotique et comportement hydrique chez certaines variétés de blé dur : relation avec la tolérance à la sécheresse. Actes de séminaire' III^{ème} journées Scientifiques sur le blé'.(éd). Univ. *Mentouri.* Constantine.
- Ober S. & Sharp P. 1994.** Polyphasic chlorophyll fluorescence transients in plants and cyanobacteria. *Photosynthesis research.* **29**: 147 -150 p.
- Osmond C.B. 1994.** What is photoinhibition? Some insights from comparisons of shade and sun plants. In: **Baker N.R. & Bowyer J.R.** (éd) Photoinhibition of Photosynthesis: From Molecular Mechanisms to the Field. *BIOS.* Scientific Publishers. *Oxford* : 1-24 p.
- Oukarroum A. 2007.** Vitalité des plantes d'orge (*Hordeum vulgare* L.) en conditions de stress hydrique et thermique analysée par la fluorescence chlorophyllienne. Thèse de doctortat 3878. Univ. *Genève.* Maroc.
- Paul M.H., Planchton C. & Ecochard R. 1979.** Etude des relations entre le développement foliaire, le cycle de développement et la productivité chez le soja. *Amélio plants.* **29** : 479 -492 p.
- Pfeiffer W.H., Sayre K.D. & Reynolds M.P. 2000.** Enhancing genetic grain yield potential and yield stability in durum wheat. *Options méditerranéennes.* **40**: 83-93p.
- Poorter H. 1989.** Interspecific variation in relative growth rate: on ecological consequences. In: Causes and consequences of variation in growth rate and productivity of higher plants.
- Ramanjulu S. & Bartels D. 2002.** Drought and desiccation-induced modulation of gene expression in plants. *Plant Cell.* **25**: 141-151 p.
- Rasio A., Sorrentino G., Cedola M.C., Pastore D. & Wittner G. 1987.** Osmotic and elastic adjustment of durum wheat leaves under stress conditions. *Genetic Agr.* **41**: 427 - 436 p.



- Robelin M. 1984.** Fonctionnement hydrique et adaptation a la sécheresse. Physiologie du maïs : 445 – 476 p.
- Samaras Y., Bresson R.A., Csonka L.N., Garcia-Rios M.G., Paino D’Urzo M. & Rhodes D. 1995.** Proline accumulation during drought and salinity. In : **Sminoff N.** *Environment and plant metabolism, flexibility and acclimation.* Oxford BIOS.161: 79- 88 p.
- Savouré A., Jaoua S., Hua XueJun., Ardiles W., Van Montagu M. & Verbruggen N. 1995.** Isolation, characterization, and chromosomal location of a gene encoding the DELTA 1-pyrroline-5-carboxylate synthetase in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Letters* .372: 13 -19 p.
- Schulze E-D. Beck E. & Müller-Hohenstein K. 2005.** Plant ecology. *Springer.* Berlin:117-143p.
- Scofield T., Evans J., Cook M.G. & Wardlow I.F. 1988.** Factors influencing the rate and duration of grain filling in wheat. *Aust.J. Plant physiol.* **4**: 785 - 797 p.
- Siakhène N. 1984.** Effet du stress hydrique Sur quelques espèces de luzerne Annuelle. Mémoire ing Agr. INA. El Harrach : 90 p.
- Slama A. 2002.** Étude comparative de la contribution des différentes parties du plant du blé dur dans la contribution du rendement en grains en irrigué et en conditions de déficit hydrique. Thèse de doctorat en biologie. Tunis.
- Slama A., Ben Salem M. & Zid D. 2004.** La proline est-elle un osmorégulateur chez le blé dur ? Communication aux 15^{es} Journées biologiques. Forum des sciences biologiques. Association tunisienne des sciences biologiques.
- Slama A., Ben Salem M., Ben Naceur M. & Zid E.D. 2005.** Les céréales en Tunisie : production, effet de la sécheresse et mécanismes de résistance. Institut national de la recherche agronomique de Tunisie (Inrat). Univ. Elmanar. Tunisie. (http://www.john-libbey-eurotext.fr/fr/revues/agro_biotech/sec/e-docs/00/04/11/2E/telecharger.md).
- Slyter R. 1974.** The effect of internal water status on plant growth development and yield In : plant responses to climatic factors .Proc.of upsal simpium, *Unesco.*
- Smart L.B., Moskal W.A., Cameron K.D. & Bennett A.B. 2001.** MIP Genes are down-regulated under drought stress in *Nicotiana glauca*. *Plant Cell Physiol.* **42**:686-693 p.
- Soltner D. 1998.** Les grandes productions végétales : céréales, plantes sarclées, prairies. Sainte-Gemme-sur-Loire, Sciences et Techniques Agricoles.
- Strasser R.J., Srivastava A., Tsimilli-Michael M. 2004.** Analysis of the chlorophyll *a* fluorescence transient. In: Advances in Photosynthesis and Respiration. Vol. 19; Chlorophyll Fluorescence *a* Signature of Photosynthesis. **Papageorgiou G. & Govindjee** (éd), Kluwer Academic Publishers, the Netherlands: 321-362 p.
- Tahri E., Belabed A. & Sadki K. 1997.** Effet d’un stress osmotique sur l’accumulation de proline, de chlorophylle et des ARNm codant pour la glutamine synthétase chez trois variétés de blé dur (*Triticum durum Desf.*). *Bulletin de l’Institut Scientifique.* Rebat.**21**: 81 - 89 p.
- Talbert L.E., Blake N.K., Storlie E.W. & Lavin M. 1995.** Variability in wheat based on lowcopyDNA sequence comparisons. *Genome.* **38** : 951 - 957 p.
- Teare I.D. & Kanemasu E.T. 1972.** Stomatal diffusion resistance and potentialy as affected by preconditioning water stress in the field. *Agronomie Journal* . **68** : 707-708 p.



- Temagoult M. 2009.** Analyse de la variabilité de la réponse au stress hydrique chez des lignées recombinantes de Tournesol (*Helianthus annuus L.*). Mémoire de magistère. Univ. Mentouri. Constantine.
- Thakur P.S. & Rai V.K. 1982.** Effect of water stress on protein content in two maize cultivars differing in drought resistance. *Biologia Plant (Praha)*. **24** : 96 -100 p.
- Triboi E.1990.**Modèle d'élaboration du poids du grain chez le blé tendre.*Agronomie*. **10** : 191- 200p.
- Tsimilli-Michael M. M., Pêcheux R.J. & Strasser. 1998.** Vitality and stress adaptation of the symbionts of coral reef and temperate foraminifers probed *in hospite* by the fluorescence kinetics O-J-I-P. *Archs. Sci. Genève*.**51**: 205 - 240 p.
- Turhan H. & Baser I. 2004.** *In vitro* and *in vivo* water stress in sunflower (*Helianthus annuus l.*). *Helia*. **27**. **40**. UDC. (633.854): 227- 236 p.
- Turner NC. 1986.** Adaptation to water deficit: a changing perspective. *Aust J Plant Physiol* . **13**: 175- 90 p.
- Umeda M., Hara C., Matsubayashi Y., Li H.H., Liu Q., Tadokoro F., Aotsuka S. & Uchimiya H . 1994.** Expressed sequence tags from cultured cells of rice (*Oryza sativa L.*) under stressed conditions: analysis of transcripts of genes engaged in ATP-generating pathways. *Plant Mol Biol*. **25**: 469 - 478 p.
- Wall A.M., Ripley R. & Gale M.D. 1971.** The position of a locus on chromosome 5B of *Triticum aestivum* affecting homoeologous meiotic pairing. *Genet Res*. **18**: 329 - 339 p.
- Wang G.Z., Miyashita N.T. & Tsunewaki K. 1997.** Plasmon analyses of *Triticum* (wheat) and *Aegilops*: PCR-single-strand conformational polymorphism (PCR-SSCP) analyses of organellar DNA. *PNAS*. **94**: 14570 - 14577 p.
- Xu W., Campbell P., Vargeese A.K. & Braam J. 1996.** The Arabidopsis XET-related gene family : environmental and hormonal regulation of expression. *Plant J*. **9**: 879 - 889 p.
- Yamada S., Komori T., Myers P.N., Kuwata S., Kubo T. & Imaseki H. 1997.** Expression of plasma membrane water channel genes under water stress in *Nicotiana excelsior*. *Plant Cell Physiol*. **38** : 1226 -1231 p.
- 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. Sérié A. **40** : 327 -330 p.
- Ykhlef N. 2001.** Photosynthèse, Activité photochimique et tolérance au déficit hydrique chez le blé dur (*Triticum durum ; Desf*). Thèse de doctorat. Univ. Mentouri .Constantine.
- Zeghida A., Amrani R., Djennadi F., Ameroun R., Khldoun A.A. & Belloucif M. 2004.** Etude de la variabilité de réponse des plantules de blé dur (*Triticum durum Desf*) à la salinité. *Céréaliculture*. ITGC. **42**. Constantine : 5p.
- Zerrad W., Hillali S., Mataoui B., El Antri S. & Hmyene A. 2006.** Etude comparative des mécanismes biochimiques et moléculaires de résistance au stress hydrique de deux variétés de blé dur. Biochimie, Substances naturelles et environnement. *Congrès international de biochimie*. Agadir.
- Zukas A.A. & Breksa A.P. 2005.** Extraction methods for analysis of *Citrus* leaf proteins by two-dimensional gel electrophoresis. *Journal of Chromatography A*. **1078**: 201 -205 p.

Annexes

Annexe.01

Taxonomie et classification des *Triticum*

Taxonomie (Feillet, 2000)

Embranchement	Spermaphytes
Sous Embranchement	Angiospermes
Classe	Monocotylédones
Ordre	Poales
Famille	Poaleae
Sous-famille	Festucoideae
Tribu	Triticeae
Sou-Tribu	Triticineae
Genre	<i>Triticum</i>
Espèce	<i>Triticum durum</i> Desf.

Classification des *Triticum* (d'après Feillet, 2000)

Forme sauvage	Forme cultivée	Nom commun	Nombre de chromosomes (2n)	Nature des génomes
<i>T.boeoticum</i>	<i>T.monococcum</i>	engrain	14	AA
<i>T.urartu</i>			14	AA
<i>T.dicoccoides</i>	<i>T.dicoccum</i>	blé poulard	28	AA BB
	<i>T.durum</i>	blé dur	28	AA BB
	<i>T.polonicum</i>	blé de pologne	28	AA BB
	<i>T.turgidum</i>		28	AA BB
	<i>T.araraticum</i>		28	AA BB
<i>T.monococcum</i> × <i>T.speltoides</i> × <i>Aegilops squarrosa</i>	<i>T.aestivum</i>	blé tendre	42	AA BB DD
	<i>T.spelta</i>	épeautre	42	AA BB DD
	<i>T.sphaerococcm</i>	blé indiennain	42	AA BB DD
	<i>T.compactum</i>	blé club	42	AA BB DD

T: *Triticum*.

Annexe.02**Milieu de culture (Murashige et Skoog)****Tableau : Composition de milieu (MS) de la culture *in vitro* (pour les deux lots).**

Milieu de germination et de culture des graines de blé dur (Murashige et Skoog, 1962)		
Macroéléments	Concentration finale (mg par litre)	Volume à ajouter (ml par litre)
NH ₄ NO ₃	1 650	
KNO ₃	1 900	50
CaCl ₂	440	
MgSO ₄	370	
KH ₂ PO ₄	170	
Microéléments		
H ₃ BO ₃	6.2	
MnSO ₄ -H ₂ O	22.3	
ZnSO ₄ -7H ₂ O	8.6	
CoCl ₂ -6H ₂ O	0.025	10
CuSO ₄ -5H ₂ O	0.025	
Na ₂ MoO ₄ -2H ₂ O	0.25	
KI	0.83	
Vitamines		
Acide nicotinique	0.5	
Pyridoxine HCl	0.5	
Thiamine HCl	0.1	10
Glycine	2.0	
Myo-inositol	100	
Fer		
Na ₂ EDTA	37.3	10
Fe SO ₄ -7H ₂ O	27.8	
Géifiant		
Agar		10 000 mg
Sucres		
Saccharose		30 000 mg
PH ajusté à 5,6		
PEG 600 (Pour le lot traité)		70 000 mg

Annexe.03

Solutions de l'extraction des protéines totales

Solution de précipitation (placer au froid) (A)

TCA (100%)	10 ml (10g TCA/100ml acetone) → 10%
β-mercaptoéthanol	70 µl → 0.07%
Acetone qsp	100ml

Solution de rinçage (placer au froid) (B)

β -mercaptoéthanol	70 µl → 0.07%
Acétone qsp	100ml

Laemmli (Tampon de dénaturation)

Tris-HCL 6,8	12.5 ml
SDS	2 g
Glycérol	10 ml
β -mércaptoéthanol	2 ml
Bleu de Bromophénol	0.0025 g
Eau qsp	100 ml

Solution de 20 ml de SDS à 10% :

Peser 2 g de SDS.

Ajouter 18 ml d'eau distillée et chauffer à 68° C.

Ajuster le pH à 7.2 avec du HCl.

Compléter le volume à 20 ml.

Stocker à température ambiante.

Annexe.04

Solutions et tampons utilisés pour SDS-PAGE

Solution mère d'acrylamide à 35% (à préparer avec gants et masque)

Acrylamide	35 g
Eau distillée qsp	100 ml

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

Bis acrylamide	2 g
Eau distillée qsp	100 ml

Solution stock de SDS à 10%

Sodium Dodécyl Sulfate	10 g
Eau distillée qsp	100 ml

Solution d'APS (Ammonium Persulfate) à 1% : à préparer extemporanément

APS	0.1 g
Eau distillée qsp	10 ml

Tampon Tris-HCl pH 8.8 (à préparer sous la hotte, avec gants et masque)

Tris (hydroxyméthyl aminomethan)	60.57 g
Eau distillée	400 ml
Ajuster à pH 8.8 avec du HCl fumant	8 à 10 ml
Eau distillée qsp	500 ml

Tampon Tris HCl pH 6.8 (à préparer sous la hotte, avec gants et masque)

Tris (hydroxyméthyl aminomethan)	30.285 g
Eau distillée	200 ml
Ajuster à pH 6.8 avec du HCl fumant	19.5 ml
Eau distillée qsp	250 ml

Tampon d'électrophorèse

Glycine	70.55 g
Tris (hydroxyméthyl amino Ethan)	15 g
SDS	5 g
Eau distillée qsp	5000 ml

Solution de coloration (pour deux gels)

TCA 60%	100 ml (60gTCA/100ml Eau distillée)
Solution mère de Bleu de Coomassie R-250	25 ml
Eau distillée qsp	500 ml

Solution mère de bleu de Coomassie R250

Bleu de Coomassie R250	10 g
Ethanol 95° qsp	1000 ml

L'éthanol doit être mis en agitation dans l'éprouvette, avec un barreau aimanté. Le bleu de Coomassie est ensuite ajouté (sinon le bleu prend en masse au fond du contenant). Laisser en agitation au moins deux heures, puis filtrer la solution.

Composition du Kit (FPM)

Protéine	Poids moléculaire (KDa)
α-Lactalbumine	14,4
Inhibiteur de la trypsine	20,1
Carbonique anhydrase	30
Ovalbumine	45
Albumine sérique bovine	66
Phosphorylase b	97

Annexe 05

Préparation des gels

(Quantités pour une cuve de deux gels)

Gel de séparation (running gel) T= 15% et C = 0.027%

Acrylamide à 35%	33.37 ml
Bis acrylamide à 2%	16.20 ml
Eau distillée	8.83 ml
Tris – HCl pH 8.8	18.8 ml
SDS à 10%	0.8 ml
APS à 1%	2.5 ml
Temed	50 µl

Gel de concentration (stacking gel) T= 4%

Acrylamide à 35%	2 ml
Bis acrylamide à 2%	0.6 ml
Eau distillée	20.4 ml
Tris – HCl pH 6.8	3.4ml
SDS à 10%	0.28 ml
APS à 1%	1.4ml
Temed	30 µl

Annexe. 06

Tableaux d'analyse de variance à deux facteurs fixes (AV₂)
des paramètres étudiés

Tab.01 : Comparaison des moyennes de surface foliaire obtenues à partir des différents types de stress appliqués aux sept variétés de blé dur. Résultats du test d'analyse de la variance à deux facteurs fixe de classification modèle linéaire généralisée V × N

Source	ddl	SC	CM	F _{obs}	P
Variance	6	1166,350	194,392	195,01	0,000***
Niveau	4	577,652	144,413	144,87	0,000***
Int V × N	24	80,303	3,346	3,36	0,000***

Tab.02 : Comparaison des moyennes des poids spécifiques foliaires obtenues à partir des différents types de stress appliqués aux sept variétés de blé dur. Résultats du test d'analyse de la variance à deux facteurs fixe de classification modèle linéaire généralisée V × N

Source	ddl	SC	CM	F _{obs}	P
Variance	6	1260,71	210,12	56,42	0,000***
Niveau	4	372,32	93,08	24,99	0,000***
Int V × N	24	7649,32	318,72	85,58	0,000***

Tab.03 : Comparaison des moyennes de la teneur relative en eau à partir des différents types de stress appliqué aux sept variétés de blé dur. Résultats du test d'analyse de la variance à deux facteurs fixe de classification modèle linéaire généralisée V × N

Source	ddl	SC	CM	F _{obs}	P
Variance	6	337,39	56,23	14,60	0,000***
Niveau	4	6970,31	1742,58	452,49	0,000***
Int V × N	24	1180,04	49,17	12,77	0,000***

Tab.04 : Comparaison des moyennes des taux de déperdition d'eau obtenues à partir des différents types de stress appliqués aux sept variétés de blé dur. Résultats du test d'analyse de la variance à deux facteurs fixe de classification modèle linéaire généralisée V × N

Source	ddl	SC	CM	F _{obs}	P
Variance	6	1053,89	175,65	44,40	0,000***
Niveau	4	2903,67	725,92	183,49	0,000***
Int V × N	24	789,42	32,89	8,31	0,000***

Tab.05 : Comparaison des moyennes de résistance stomatique obtenues à partir des différents types de stress appliqués aux sept variétés de blé dur. Résultats du test d'analyse de la variance à deux facteurs fixe de classification modèle linéaire généralisée V × N

Source	ddl	SC	CM	F _{obs}	P
Variance	6	585856	97643	117,43	0,000***
Niveau	4	232024	58006	69,76	0,000***
Int V × N	24	206200	8592	10,33	0,000***

N = niveau de stress ; V = variété ; **Int N×V** = interaction (N×V). *P ≤ 0,05, **P ≤ 0,01, ***P ≤ 0,001 : Respectivement significative, hautement significative et très hautement significative ; P > 0,05 NS: non significative. **ddl** : degré de liberté, **SCE** : somme des carrés des écarts, **CM** : carré moyenne, **F_{obs}** : observé, **P** : Probabilité

Tab.06 : Comparaison des taux moyennes en chlorophylle totale obtenue à partir des différents types de stress appliqués aux sept variétés de blé dur. Résultats du test d'analyse de la variance à deux facteurs fixes de classification modèle linéaire généralisée V × N

Source	ddl	SC	CM	F _{obs}	P
Variance	6	443,561	73,927	63,04	0,000***
Niveau	4	394,721	98,680	84,15	0,000***
Int V × N	24	41,828	1,743	1,49	0,102 NS

Tab.07 : Comparaison des moyennes du rendement quantique obtenues à partir des différents types de stress appliqués aux sept variétés de blé dur. Résultats du test d'analyse de la variance à deux facteurs fixe de classification modèle linéaire généralisée V × N

Source	ddl	SC	CM	F _{obs}	P
Variance	6	0,379085	0,063181	32,61	0,000***
Niveau	4	0,016244	0,004061	2,10	0,090 NS
Int V × N	24	0,058695	0,002446	1,26	0,224 NS

Tab.08 : Comparaison des teneurs moyennes en proline obtenues à partir des différents types de stress appliqués aux sept variétés de blé dur. Résultats du test d'analyse de la variance à deux facteurs fixe de classification modèle linéaire généralisée V × N

Source	ddl	SC	CM	F _{obs}	P
Variance	6	74484	12414	833,96	0,000***
Niveau	4	939631	234908	1,6E+04	0,000***
Int V × N	24	146058	6086	408,84	0,000***

Tab.09 : Comparaison des teneurs moyennes en sucres solubles obtenus à partir des différents types de stress appliqués aux sept variétés de blé dur. Résultats du test d'analyse de la variance à deux facteurs fixe de classification modèle linéaire généralisée V × N

Source	ddl	SC	CM	F _{obs}	P
Variance	6	643481	107247	4862,38	0,000***
Niveau	4	1287364	321841	1,5E+04	0,000***
Int V × N	24	865340	36056	1634,71	0,000***

N = niveau de stress ; V = variété ; Int N×V = interaction (N×V). *P ≤ 0,05, **P ≤ 0,01, ***P ≤ 0,001 : Respectivement significative, hautement significative et très hautement significative ; P > 0,05 NS: non significative. **ddl** : degré de liberté, **SCE** : somme des carrés des écarts, **CM** : carré moyenne, **F_{obs}** : observé, **P** : Probabilité

Annexe.07

Matrice des coefficients de corrélation des différentes variables analysées

	TRE	TDE	Rs	Chl	Fluo	Prol	Suc	SF	PSF
TRE	1								
TDE	0,670***	1							
Rs	-0,543***	- 0,617***	1						
Chl	0,588***	0,262***	-0,167NS	1					
Fluo	-0,056NS	0,085NS	-0,165NS	-0,199*	1				
Prol	-0,775***	-0,703***	0,431***	-0,560***	0,286***	1			
Suc	-0,646***	-0,409***	0,118NS	-0,477***	0,180NS	0,737***	1		
SF	0,537***	0,650***	-0,569***	0,186NS	0,408***	-0,458***	-0,429***	1	
PSF	0,507***	0,217*	-0,221*	0,589***	-0,109NS	-0,418***	-0,165NS	-0,030NS	1

*: Significatif pour $p \leq 0.05$, **: très significatif pour $p \leq 0.02$, *** : très hautement significatif pour $p \leq 0.01$.

Nom : **MOUELLEF**
Prénom : **ADRA**

Date de Soutenance : **04 juillet 2010**

Titre : Caractères physiologiques et biochimiques de tolérance du blé dur (*Triticum durum Desf.*) au stress hydrique.

Résumé :

L'objectif de ce travail est d'étudier l'effet de stress hydrique et la variabilité de la réponse chez sept génotypes de blé dur (*Triticum durum Desf.*) : Djenah khetaifa, et Waha. Bidi 17, Guem goum Rkham, Rahouia, Beliouni, Vitron

Dans la première partie, on a étudié différents paramètres morphologiques, physiologiques et biochimiques sous cinq niveaux d'irrigation (100, 80, 50, 25 et 12.5% de capacité au champ), le choix des niveaux d'irrigation est appliqué au stade 3^{ème} feuille. Les résultats obtenus montrent que le stress hydrique a entraîné une réduction de la surface foliaire, une diminution de la teneur relative en eau, du taux de la déperdition d'eau et du taux de la chlorophylle totale. De même, une augmentation du poids spécifique foliaire, de la résistance stomatique et une accumulation de la proline et des sucres solubles sont enregistrées

Dans la deuxième partie, on a analysé par SDS-PAGE les protéines totales foliaires et racinaires exprimées chez les mêmes génotypes après un stress hydrique appliqué *in vitro* par ajout de PEG 600 à 7%. Les diagrammes électrophorétiques, nous donnent des sous unités présentes aussi bien chez les témoins que chez les stressées, alors que d'autres sont présentes /ou absentes chez les stressées et les témoins.

En conclusion, l'étude a montré que le stress hydrique provoque les mêmes mécanismes de la réponse chez les sept génotypes mais à des degrés différents.

Mots clés : Stress hydrique, tolérance, blé dur, morphologie, physiologie et biochimie, la culture *in vitro*, PEG, électrophorèse SDS-PAGE.

Laboratoire de Génétique, Biochimie et Biotechnologies végétales. Département de Biologie Végétale et Écologie.

Président : **BAKA M.**, Prof. Université **Mentouri** Constantine.
Rapporteur : **YKHLEF N.**, Prof. Université **Mentouri** Constantine
Examineurs : **BOUDOUR L.**, M.C à l'Université **Mentouri** Constantine.
SENOUSSI M.M. Prof. à l'Université de **Oum El Bouaghi.**