

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Frères MENTOURI Constantine



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie et Ecologie Végétale

N° d'ordre : 14/ D3C /2017

Série : 01/ECO /2017

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

Option : « Biotechnologie et Génomique Végétales »

Efficienc e de l'utilisation de l'eau chez le blé dur :
Etude des mécanismes physiologiques et moléculaires
(Protéines Aquaporines) : Définition d'idéotype.

Présenté par : Mme BENTAHAR Soumia

Soutenu le : 15 / 03 / 2017

Devant le jury

Président:	Pr. A. Djekoun Professeur Université des Frères Mentouri	Constantine
Rapporteur:	Pr. N. Ykhlef Professeur Université des Frères Mentouri	Constantine
Examineurs:	Pr. M. Boudjeniba Professeur Ecole Nationale Supérieure ENS	Alger
	Pr.M.Hafsi Professeur Université Ferhat Abbas	Sétif
	Mme. R.Bousba MCA Université des frères Mentouri	Constantine

Année Universitaire: 2016/2017

Remerciements

Mes premiers remerciements s'adressent d'abord à M^{me} Ykhlef. N Professeur à l'université des frères MENTOURI Constantine, et directrice de ce travail, pour m'avoir accueillie dans son laboratoire et donné la chance d'y travailler. Je la remercie pour ses conseils et directives qui ont guidé mes pas, pour son soutien moral et sa disponibilité malgré ses nombreuses obligations.

Je tiens à remercier le professeur A.Djekoun recteur de l'université des frères MENTOURI Constantine de m'avoir fait l'honneur de présider ce jury, mais aussi à l'ensemble des membres du jury : Pr. M. Boudjeniba, Pr. M. Hafsi et Dr. R. Bousba qui ont accepté d'évaluer mon travail.

Mes remerciement vont tout particulièrement à Monsieur Philippe Clair qui m'a accompagné et conseillé tout au long de mon stage à la plateforme GenomiX- Montpellier. Je le remercie pour sa sympathie, sa gentillesse, son soutien par la bonne humeur et toutes ses connaissances pratiques qu'il a su partager avec joie. J'adresse toute ma reconnaissance à Mylène et Frédérique pour leur aide technique.

Merci à tout le personnel du laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologie Végétale (GBBV) tant ingénieurs que chercheurs : à Mr. Nadir BELBEKRI notre pilier du laboratoire, à Ryma BOULDJEJ pour son dévouement, sans oublier Radhia DJEGHAR pour sa sympathie.

Merci aussi aux enseignements Mr. Kamel KELLOU, Mme. Sandra KACEM, Adra MOUELEF et Mahmoud TAMAGOULT de m'avoir accepté comme assistante TP.

Remerciements

J'aimerais adresser un remerciement particulier à mes collègues doctorants: Mounich, kyma, Mina, Wassila, Narimane, Chourouk ,Zoheira et Seif pour tous les bons moments et les instants de délires et de folies qu'on a passé ensemble durant toutes ces années de préparation de thèse.

Merci à mes deux chères amies et camarades de promotion Imén et Dallel pour avoir sans cesse cru en moi.

Le plus grand merci va à mon époux « Farès ». Sans toi rien ne pourrait être possible. Merci pour ton soutien, tes encouragements, ta patience, ta compréhension, et tous les efforts que tu fais pour que mes ambitions se réalisent. Merci de me remettre à chaque fois en confiance quand le doute s'installe et m'invite à l'abandon.

Merci à ma fille Yasmine simplement d'être là.

J'adresse mes derniers mots à mes parents, sans qui je n'aurais jamais réalisé ce parcours, j'espère que vous serez fiers de votre fille. Merci à mes sœurs et frères, tout simplement d'avoir été toujours là .Notre complicité a été un soutien indispensable.

Merci à ma famille et à ma belle famille

Dédicaces

A mon Père, l'homme d'exception, mon professeur pour toujours

A ma mère, ma force et ma source de valeurs

A Mon mari "ma moitié", mon soutien et mon équilibre

A ma fille "Yasmine "

A mes frères Billel et Mouad

A mes chères sœurs Nabila et Khawla

A mes neveux "The power rangers" Firas, Anes, Yacine ,Amine et Jawed

À mes deux familles, Bentahar et Slimani.

Résumé

L'efficacité de l'utilisation de l'eau 'EUE' est considérée comme une caractéristique importante associée à la tolérance à la sécheresse des plantes cultivées. La présente étude s'est fixée comme objectif d'étudier les mécanismes physiologiques et moléculaires de l'efficacité de l'utilisation de l'eau chez le blé dur en mettant l'accent sur l'implication des protéines de réponse au stress (Aquaporines) dans le maintien du statut hydrique. Trois expérimentations en conditions semi-contrôlées ont été menées, dix variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.) ont été cultivées sous trois régimes hydriques, 95%, 60% et 20% de la capacité au champ. Dans le premier essai plusieurs paramètres morphologiques et physiologiques liés à l'état hydrique et associés à l'efficacité de l'utilisation de l'eau ont été mesurés : la teneur relative en eau, le taux de déperdition de l'eau, le potentiel osmotique, le taux d'électrolytes, la conductance stomatique, la température foliaire, le taux de chlorophylle, la surface foliaire, le poids spécifique foliaire ainsi que l'efficacité de l'utilisation de l'eau EUE et ses composantes. La seconde expérimentation a été consacrée pour étudier quelques traits physiologiques de la réponse des protéines Aquaporins au stress hydrique en appliquant un blocage biochimique au chlorure de mercure $HgCl_2$. A l'échelle moléculaire, l'analyse du niveau d'expression de deux isoformes TdPIP1.1 et TdPIP2 d'Aquaporins a été réalisée sur des feuilles et des racines de blé en effectuant une PCR quantitative en temps réel. Les résultats obtenus révèlent des différences variétales hautement significatives pour l'ensemble des paramètres mesurés. Cette différence est essentiellement liée au niveau du stress imposé, pour la majorité des paramètres un stress sévère de 20% CC affectent les plantes par : une diminution de la matière sèche totale ainsi que la quantité d'eau utilisée ce qui a abouti à une augmentation de l'efficacité de l'utilisation de l'eau pour la majorité des variétés. De plus, le stress imposé a induit une diminution de la conductance stomatique, du taux de chlorophylle, la teneur relative en eau, du taux de déperdition, du potentiel osmotique de la surface foliaire et une augmentation de la température foliaire, du taux d'électrolytes et du poids spécifique foliaire. En outre, l'analyse de corrélation a révélé des corrélations significatives entre l'EUE et les paramètres étudiés tels que la quantité d'eau utilisée et la conductance stomatique qui sont considérés comme des traits importants à prendre en considération en étudiant l'efficacité de l'utilisation de l'eau. L'inhibition de l'activité des Aquaporins par le chlorure de mercure $HgCl_2$ a mis en évidence la relation entre ces protéines et les indicateurs de l'efficacité de l'utilisation de l'eau (transpiration, conductance stomatique). Nos résultats montrent que sous un stress de mercure les variétés ont présenté des capacités de résistance ou de tolérance différentes ce qui est fortement liée avec les différentes activités des Aquaporins (activation/inhibition) ainsi qu'avec les capacités adaptatives des variétés. Les résultats de l'analyse quantitative des gènes d'aquaporines en conditions de stress sévère a indiquée que le gène TdPIP1.1 est négativement régulé dans les racines, l'abondance des transcrits est plus marquée chez la variété Cirta. A l'inverse, une régulation positive du gène TdPIP2.1 a été soulignée dans les racines de la variété Boussemelam. Nos résultats peuvent suggérer la variété Boussemelam comme un génotype tolérant en ayant présenté une bonne efficacité de l'utilisation de l'eau en conditions de stress hydrique qui est une résultante de la régulation positive des gènes d'aquaporines au niveau des racines. Ces résultats préliminaires constituent un point de départ de la compréhension de la relation liant l'efficacité de l'utilisation de l'eau et l'activité des Aquaporines en conditions de sécheresse.

Mots clés : efficacité de l'utilisation de l'eau, blé dur, Aquaporines.

Abstract

Water use efficiency is considered as an important characteristic associated with crops drought tolerance crops. The current thesis is based on the study of the physiological and molecular mechanisms of water use efficiency in durum wheat emphasizing on the involvement of stress response proteins (Aquaporins) in maintaining water status. Three experiments under semi-controlled conditions were conducted, ten varieties of durum wheat (*Triticum durum* Desf) were grown under three water regimes, 95%, 60% and 20% of the field capacity. In the first assay several morphological and physiological parameters related to the water status and associated with water use efficiency were measured: relative water content, water loss rate, osmotic potential, electrolyte leakage, stomatal conductance, leaf temperature, chlorophyll rate, leaf area, specific leaf weight, as well as the water use efficiency (WUE) and its components. The second experiment was devoted to the analysis of some physiological traits of Aquaporins response to water stress by applying the biochemical inhibitor HgCl₂ “mercury chloride”. At the molecular level, the analysis of expression level of two Aquaporins isoforms TdPIP1.1 and TdPIP2.1 was carried out on wheat leaves and roots using a real-time quantitative PCR. The obtained results revealed highly significant differences among varieties for all measured parameters. This difference is mainly related to the level of stress imposed, for the majority of the studied parameters the effect of severe stress of 20% FC is mainly characterized by a decrease of the total dry matter as well as the quantity of water used which has led to an increase in the Water use efficiency for the majority of varieties. Moreover, stress induced a decrease in stomatal conductance, chlorophyll rate, relative water content, leaf area, osmotic potential and an increase in leaf temperature, electrolyte leakage, and specific leaf weight. In addition, the correlation analysis revealed significant correlations between WUE and the studied parameters such as total water consumption and stomata conductance which are considered as important traits to regard when studying WUE. The inhibition of the activity of the Aquaporins by HgCl₂ highlighted the relationship between these proteins and the indicators of the water use efficiency (transpiration and stomata conductance). Our results showed that under mercury stress the varieties exhibited different resistance or tolerance capacities, which are strongly related to the different activities of the aquaporins (activation / inhibition) as well as to the adaptive capacities of the varieties. The results of the quantitative analysis of the aquaporin genes under severe stress conditions indicated that the TdPIP1.1 gene was negatively regulated in the roots, the abundance of the transcripts is more considerable in the roots of the variety Cirta. Conversely, a positive regulation of the TdPIP2.1 gene was emphasized in the roots of the variety Bousselam. This genotype may be suggested as tolerant genotype showing high values of water use efficiency under water stress conditions which is a result of the positive regulation of the aquaporin genes in the roots. These preliminary results provide a starting point for understanding the relationship between water use efficiency and Aquaporins activity under drought conditions.

Key words: Water use efficiency, durum wheat, Aquaporins .

ملخص

تعتبر فعالية استخدام الماء ميزة هامة مرتبطة بتحمل الجفاف لدى المحاصيل . إن الهدف من هذا البحث دراسة الآليات الفسيولوجية والجزئية لفعالية استخدام المياه في القمح الصلب مع التركيز على دور بروتينات الاستجابة للإجهاد المائي (Aquaporines) في الحفاظ على الوضع المائي. أجريت ثلاث تجارب في ظروف شبه محكمة على عشرة أصناف من القمح الصلب تحت تأثير ثلاثة أنظمة مائية 95%، 60% و 20% من السعة الحقلية في التجربة الأولى، تم قياس العديد من العوامل المورفولوجية والفسيولوجية المرتبطة بالوضع المائي من جهة و بفعالية استخدام الماء من جهة أخرى : المحتوى المائي النسبي ، معدل فقدان المياه، الضغط الأسموزي ، نسبة الشوارد ، ودرجة الحرارة الورقة، التوصيل الثغري، ومعدل الكلوروفيل، ومساحة الورقة، الوزن النوعي للورقة بالإضافة إلى فعالية استخدام الماء ومكوناتها. أما التجربة الثانية فقد خصصت لدراسة بعض الصفات الفسيولوجية للاستجابة بروتينات Aquaporines لظروف نقص المياه وذلك عن طريق عن طريق تطبيق تثبيط بيوكيميائي باستخدام كلوريد الزئبق $HgCl_2$ على المستوى الجزيئي، تم إجراء تحليل لمستوى ترجمة اثنين من جينات (Aquaporines) TdPIP1.1 و TdPIP2 على أوراق وجذور القمح وذلك عن طريق استعمال تقنية الـ PCR الكمية في الوقت الحقيقي. أظهرت النتائج وجود فروق في غاية الأهمية بين أصناف القمح الصلب وذلك في مجمل القياسات التي تم إجراؤها. وهذا الاختلاف يرجع بالدرجة الأولى إلى مستوى الإجهاد المائي المفروض . بالنسبة لمعظم العوامل المدروسة يتمثل تأثير الإجهاد الحاد 20% في انخفاض في إجمالي المادة الجافة وكمية المياه المستخدمة مما يؤدي إلى زيادة فعالية استخدام المياه لمعظم الأصناف إضافة إلى ذلك فإن هذا المستوى من الإجهاد المائي تسبب في انخفاض في المحتوى المائي النسبي مرفقا بانخفاض في معدل فقدان المياه ومعدل الكلوروفيل، التوصيل الثغري ، الضغط الأسموزي ومساحة الورقة بالإضافة إلى ارتفاع في درجة حرارة الورقة، ونسبة الشوارد وكذلك في الوزن النوعي للورقة. وقد كشف تحليل الارتباط عن ارتباطات ذات أهمية بالغة بين فعالية استخدام المياه وبعض المؤشرات المدروسة مثل كمية الماء المستخدمة و التوصيل الثغري اللذان يعتبران من المميزات الهامة التي يجب مراعاتها عند دراسة فعالية استخدام الماء. أظهر تثبيط نشاط الـ (Aquaporines) باستخدام كلوريد الزئبق $HgCl_2$ العلاقة بين هذه البروتينات وبعض مؤشرات فعالية استخدام الماء على سبيل المثال (النتح، التوصيل الثغري). وتشير النتائج التي توصلنا إليها انه تحت إجهاد الزئبق أظهرت أصناف القمح الصلب قدرات مقاومة أو تأقلم مختلفة وهذا راجع بالدرجة الأولى إلى حالة نشاط الـ (Aquaporines) (تفعيل / تثبيط) و كذلك إلى قدرات تكيف الأصناف المدروسة. أظهرت نتائج التحليل الكمي للجينات aquaporin تحت ظروف الإجهاد المائي الحاد استجابة سلبية للجين TdPIP1.1 في الجذور وذلك بمستوى أقوى لدى الصنف (سيرتا) على عكس الجين TdPIP2.1 الذي أظهر استجابة ايجابية بارزة في جذور الصنف (بوسلام) . يمكن لنتائج هذه الدراسة اقتراح صنف "بوسلام" كصنف متحمل للجفاف بعد أن أظهر كفاءة جيدة لاستخدام الماء مرفقة بكمية صغيرة من المياه المستخدمة تحت ظروف الإجهاد المائي ، وذلك كنتيجة للاستجابة الايجابية لجين TdPIP2.1 في الجذور. تعتبر هذه النتائج الأولية نقطة انطلاق لفهم العلاقة التي تربط بين فعالية استخدام الماء ونشاط Aquaporin في ظروف الجفاف.

الكلمات المفتاحية : فعالية استخدام الماء ، Aquaporines، القمح الصلب .

Liste des abréviations

ABA: acide abcissique.
ADN : Acide désoxyribonucléique
ADNc ou c-DNA. : ADN complémentaire.
APS : persulfate d'ammonium.
ARN ou RNA: acide ribonucléique.
ARNm : ARN messenger
ARNtx : ARN totaux
AQPs : Aquaporines
bp : paire de base.
C %: "cross-linking", Bisacrylamide (g)/ (Acrylamide+Bisacrylamide) (g) x100.
C° : Degré Celsius
CT : Treshold cycle (cycle-seuil)
CC : Capacité au Champ
DEPC: Di-Ethyl-Pero-Carbonate.
dNTP: Désoxy-Nucléosine-Triphosphate.
DTT : dithiothréitol.
E : évapotranspiration
EUE : efficacité de l'utilisation de l'eau
EU : Eau utilisée
EDTA: Ethylène Diamine Tétra-Acétate.
FAO : Food and Agriculture Organization.
FC:Field Capacity
gs : Conductance stomatique
h : heure.
HgCl₂ : Chlorure de mercure
HSP : Hot Shok Protein
ITGC : Institut Technique des Grandes Cultures.
KDa : kilo dalton.
LEA: Late Embryogenesis Abundant.
mA : milliampère.
M-MLV : Moloney Murine Leukemia Virus.
mn : minute.
MPa : megapascal.
nm : nanomètre.
MS : Matière sèche
PCR : Polymerase Chain Reaction (Réaction de polymérisation en chaîne)
PF : poids frais.
PM : poids moléculaire.
PS : poids sec.
Psf : poids spécifique foliaire
PT : poids de turgescence.
qRT-PCR : RT-PCR quantitative en temps réel
qsp : quantité suffisante pour.
ROS : Espèces Réactives d'oxygène.
rpm : rotation par minute.
rs : Résistance stomatique.

RT-PCR : Reverse Transcriptase- Polymerase Chain Reaction.

SDS-PAGE : Sodium Dodécylsulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis.

T % : «concentration totale » Acrylamide + Bisacrylamide (g)/Total x 100.

TCA : acide trichloroacétique.

TCT : taux de chlorophylle totale.

TEMED : tétraméthyl-éthylène-diamine.

Tris : tris-hydroxyméthyl-aminométhane.

WUE : Water Use Efficiency

Ψ_f : potentiel hydrique foliaire

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
1	Surface, production et importation des céréales en Algérie de septembre 2003 jusqu'en mai 2012	7
2	Résumé des différentes approches pour améliorer EUE avec leurs techniques et les cibles correspondantes, y compris celles pouvant être atteintes par l'agronomie / gestion et celles pouvant être atteintes par biotechnologie	22
3	Classification des Aquaporines	26
4	Les génotypes étudiés et leurs origines	32
5	Amorces utilisées pour la RT-PCR en temps réel	45
6	Carrées moyens de l'analyse de la variance des paramètres associés à l'état hydrique de la plante (la teneur relative en eau TRE), Taux de déperdition (TDE), potentiel osmotique (PO) et la conductivité électrolytique (EL).	48
7	Moyennes des variables de l'efficacité de l'utilisation de l'eau(EUE), eau utilisée (EU) et matière sèche totale (MST) et leurs groupes homogènes. N _{1, 2, 3} = niveaux du stress hydrique (95%, 60%, 20% de CC); (A, B, C) indice de réparation des groupes homogènes par le test de NEWMAN-KEULS au seuil $\alpha=5\%$	56
8	Carrées moyens de l'analyse de la variance de l'efficacité de l'utilisation de l'eau et ses composantes : matière sèche totale (MST) et eau utilisée (EU).	57
9	Carrées moyens de l'analyse de la variance des paramètres physiologiques :Teneur relative en eau (TRE), Taux de chlorophylle totale (SPAD Index), Conductance stomatique (gs), Température foliaire (T°).	60
10	Carrées moyens de l'analyse de la variance des paramètres morphologiques : la surface foliaire (SF) et le poids spécifique foliaire (Psf).	66
11	matrice de corrélation entre EUE et quelques variables sous deux régimes hydrique différents	67
12	Carrés moyens de l'analyse de la variance de la conductance stomatique de dix génotypes de blé dur soumis à différentes concentrations de HgCl ₂ .	78
13	Récapitulatif du nombre de bandes révélés par électrophorèse SDS - PAGE de six variétés de blé dur sous trois régimes hydriques.	84

Figure	Intitulé	Page
1	Evolution de la production céréalière en Algérie (2000-2012).	06
2	Mécanisme de réponse des plantes à la sécheresse et les caractères impliqués dans la réponse	11
3	Une approche holistique pour l'intégration de la génomique, la physiologie et les approches de l'amélioration génétique pour le développement des variétés avec une meilleure tolérance à la sécheresse	17
4	Échelles d'étude de l'efficacité d'utilisation de l'eau	21
5	A) Topologie d'une aquaporine à travers la membrane. Les 6 domaines transmembranaires (I-VI) sont reliés par 5 boucles (A-E), les boucles B et E contiennent des motifs conservés NPA B) Structure tridimensionnelle d'un monomère d'aquaporine de tabac (<i>NtAQPI</i>) montrant les 6 domaines transmembranaires (I-VI), les deux domaines formant le pore (flèches) et les motifs NPA (en vert). La figure a été obtenue grâce au programme MODELLER7v7 et Swiss-Pdb Viewer	29
6	Schématisation de l'Organisation des essais	33
7	A) Bioanalyseur 2100 (Agilent Technologies), B) Électrophorégramme détaillant les régions indicatives de la qualité de l'ARN. D'après "RNA Integrity Number (RIN) - Standardization of RNA Quality Control".	43
8	A) LightCycleur 480 Roche B) la courbe de fusion indiquant la spécificité des amorces C) exemple d'amplification qPCR.	45
9	Variation de la teneur relative en eau des dix géotypes de blé dur soumis différents régimes hydriques 1. Waha, 2. Cirta, 3. Beliouni, 4. Rahouia, 5. Mohamed benBachir. 6. Djneh Khotifa, 7. Bouslem, 8. Simeo, 9. Gemgoum R'khem, 10. Bidi17. Les valeurs représentent les moyennes \pm SE	47
10	Variation du taux de déperdition de l'eau des dix géotypes de blé dur soumis différents régimes hydriques 1. Waha, 2. Cirta, 3. Beliouni, 4. Rahouia, 5. Mohamed benBachir. 6. Djneh Khotifa, 7. Bouslem, 8. Simeo, 9. Gemgoum R'khem, 10. Bidi17. Les valeurs représentent les moyennes \pm SE	49
11	Variation potentiel osmotique des dix géotypes de blé dur soumis différents régimes hydriques 1. Waha, 2. Cirta, 3. Beliouni, 4. Rahouia, 5. Mohamed benBachir. 6. Djneh Khotifa, 7. Bouslem, 8. Simeo, 9. Gemgoum R'khem, 10. Bidi17. Les valeurs représentent les moyennes \pm SE.	50
12	A) Variation des taux d'électrolytes de dix géotypes de blé dur soumis différents régimes hydriques 1. Waha, 2. Cirta, 3. Beliouni, 4. Rahouia, 5. Mohamed benBachir. 6. Djneh Khotifa, 7. Bouslem, 8. Simeo, 9. Gemgoum R'khem, 10. Bidi17. B) Relation entre le taux d'électrolytes (EL) et le potentiel osmotique chez les dix variétés étudiées. Les valeurs représentent les moyennes \pm SE.	51
13	Variation des quantités d'eau utilisée (Total water consumption) dix géotypes de blé dur soumis différents régimes hydriques. Les valeurs représentent les moyennes \pm SE	55
14	Matière sèche totale (Total dry Matter) de dix géotypes de blé dur soumis à différents régimes hydriques 95%, 60% et 20% CC. Les valeurs représentent les	57

Liste des figures

	moyennes \pm SE.	
15	Efficacité de l'utilisation de l'eau (Water Use Efficiency) de dix géotypes de blé dur soumis à différents régimes hydriques. Les valeurs représentent les moyennes \pm SE	58
16	Variation de la teneur relative en eau (Relative Water Content RWC) de dix géotypes de blé dur soumis à différents régimes hydriques. Les valeurs représentent les moyennes \pm SE, n=3.	59
17	Variation du taux de chlorophylle de dix géotypes de blé dur soumis à différents régimes hydriques. Les valeurs représentent les moyennes \pm SE	61
18	Variation de la conductance stomatique de dix géotypes de blé dur soumis à différents régimes hydriques 95%,60% et 20% CC. Les valeurs représentent les moyennes \pm SE.	62
19	Variation de la température foliaire (Leaf Temperature) de dix géotypes de blé dur soumis à différents régimes hydriques. Les valeurs représentent les moyennes \pm SE	63
20	Variation de la Surface foliaire (Leaf Area) de dix géotypes de blé dur soumis à différents régimes hydriques. Les valeurs représentent les moyennes \pm SE	64
21	Variation du Poids spécifique foliaire (Specific leaf weight) de dix géotypes de blé dur soumis à différents régimes hydriques. Les valeurs représentent les moyennes \pm SE	65
22	Relation entre l'efficacité de l'utilisation de l'eau WUE et l'eau totale utilisée TWC ; la matière sèche totale TDM ; la surface foliaire SF) : A) sous un régime de 60%CC ;B) sous un régime de 20%CC	68
23	Les valeurs de la conductance stomatique de dix variétés de blé dur soumises à différentes concentration de HgCl ₂ . 1. Waha, 2. Cirta, 3. Beliouni, 4. Rahouia, 5. Mohamed benBachir. 6. Djneh Khotaifa, 7. Bouslem, 8. Simeo , 9. Gemgoum R'khem, 10. Bidi17. Les valeurs représentent les moyennes \pm SE	77
24	Evolution de la transpiration journalière de dix géotypes de blé dur soumis à différentes concentration de HgCl ₂	82
25	Profils électrophorétiques SDS-PAGE des protéines extraites à partir des feuilles de blé dur soumises a différents régimes hydriques.	83
26	Niveaux de transcription des deux gènes TdPIP1.1 et TdPIP2.1 dans les feuilles et les racines de blé dur soumises à un stress sévère de 20%CC. L'expression relative des ARNm a été calculé selon la formule $2^{-\Delta\Delta Ct}$ en utilisant le gène de la Tubeline comme gène de référence. A) la variété Cir et B) la variété Bous.	86

Sommaire

Remerciements	
Dédicace	
Résumé	
Abstract	
ملخص	
Listes des abréviations	
Liste des tableaux	
Listes des figures	
Introduction générale	1
Chapitre 1: Revue bibliographique	
I. La culture de blé	4
1. Présentation	4
2. Impacte de la culture de blé sur l'économie	5
3. le blé dans le contexte national	6
II. Sécheresse risques et stratégies d'adaptations	7
1. Conséquences du changement climatique	7
2. L'eau et son importance pour le végétal	9
3. Transport de l'eau chez les végétaux	9
4. Stratégies et mécanismes d'adaptation	10
4.1. Réponses physiologiques des plantes pour maintenir l'état hydrique	11
4.1.1. Processus permettant à la plante de maintenir l'état hydrique	12
4.2. Approches de la tolérance aux stress hydrique	13
4.3 .Réponses moléculaires au stress hydrique	16
4.3.1. Les déterminants moléculaires de la tolérance des plantes à la sécheresse	17
III.L'efficacité de l'utilisation de l'eau	19
1. Définitions	19
2. Méthodologies de détermination de l'efficacité de l'utilisation de l'eau	20
3. Amélioration de l'efficacité d'utilisation de l'eau	21
3.1. Approche génétique	22
3.2. Pratiques de gestion Agronomique	23
3.3. Approche moléculaire	24
IV .Les Aquaporines	25
1. Historique et phylogénie	25
2. Structure moléculaire et mécanisme de transport	27
3. Fonctions physiologiques	27
V. Notion d'ideotype	30
1. Définition	30
2. Types d'ideotype	30
3. Approches et outils pour la conception d'idéotype	31
Chapitre 2: Matériel et méthodes	
1. Matériel végétal	32
2. Conduite et organisation des essais	32
2.1. Étude de l'efficacité de l'utilisation de l'eau et des paramètres liés à l'état hydrique	34
2.2 Effet de chlorure de mercure (HgCl ₂) sur l'activité des Aquaporines	35
2.3. Analyse biochimique et moléculaire de la réponse de quelques variétés de blé dur à un stress hydrique	35
3. Description des méthodes	35
3.1. Paramètres physiologiques	

✚	Mesure de la teneur relative en eau (TRE)	35
✚	Mesure du taux de déperdition de l'eau (TDE)	35
✚	Mesure du potentiel osmotique (PO)	36
✚	Mesure de la conductivité électrolytique	37
✚	La teneur en chlorophylle totale (TCT« unité de SPAD »)	37
✚	Mesure de la conductance stomatique	37
✚	Mesure de la température foliaire	37
✚	Taux de transpiration (transpiration journalière)	38
✚	La quantité d'eau utilisée (EU)	38
✚	La matière sèche totale (MST)	38
✚	L'Efficacité de l'utilisation de l'eau (EUE)	38
3.2.	Paramètres morphologiques	38
✚	Mesure de la surface foliaire	39
✚	Mesure du poids spécifique foliaire	39
3.3.	Analyse biochimique et moléculaire	39
✚	3.3.1. Extraction des protéines totales et analyse par SDS-PAGE	
✚	3.3.2. Analyse et quantification de l'expression de deux gènes d'Aquaporines TdPIP1.1 et TdPIP2.1	41
✚	Extraction des ARNm (TRIZOL)	41
✚	Purification de l'ARN	42
✚	Contrôle de la Qualité de l'ARN	42
✚	Transcription inverse des ARNm en ADNc	43
✚	PCR en temps réel (real time PCR)	44
✚	calcul et analyse des résultats	46
4.	Analyse des données	46

Chapitre3: Marqueurs morpho-physiologique de l'efficacité de l'utilisation de l'eau chez le blé dur en conditions de stress hydrique

I.	Etude de l'efficience de l'utilisation de l'eau et des paramètres liés à l'état hydrique	47
1.	Evaluation des paramètres liée a l'état hydrique (stade de 4ème feuille)	47
1.1.1.	La teneur relative en eau (TRE)	47
1.1.2.	Le Taux de déperdition de l'eau (TDE)	48
1.1.3.	Le potentiel osmotique	49
1.1.4.	La conductivité électrolytique	50
	Discussion	52
2.	Etude de l'efficience de l'utilisation de l'eau et de quelques paramètres morpho-physiologiques (stade feuille étandard)	54
2.1.	l'efficacité de l'utilisation de l'eau et ses composantes	54
2.1.1.	Eau utilisée (EU)	57
2.1.2.	Matière sèche totale (MST)	58
2.1.3.	Efficacité de l'utilisation de l'eau (EUE)	59
2.2.	Analyse des paramètres physiologiques	59
✚	La teneur relative en eau (TRE)	60
✚	La teneur en chlorophylle totale (SPAD Index)	61
✚	La conductance stomatique g(s)	62
✚	La température foliaire (TF)	63
2.3.	Analyse des paramètres morphologiques	63
✚	La surface foliaire (SF)	65
✚	Le poids spécifique foliaire	65
3.	l'efficacité de l'utilisation de l'eau (EUE) et les paramètres associés	66

Discussion	69
Conclusion	75

Chapitre 4: Etude physiologique et moléculaire de l'implication des Aquaporines dans la réponse au stress hydrique chez le blé dur

I. Effet du chlorure de mercure HgCl ₂ sur l'activité des Aquaporines (Traits physiologiques de la réponse des Aquaporines au stress hydrique)	77
1. Effet de chlorure de mercure HgCl ₂ sur la conductance stomatique	77
2. Effet de chlorure de mercure HgCl ₂ sur le taux de transpiration	79
II. Analyse de la réponse biochimique et moléculaire de quelques variétés de blé dur au stress hydrique	83
1. Profils électrophorétiques 1D SDS-PAGE des protéines totales foliaires	83
2. Effet du stress hydrique sur l'expression de deux gènes d'AQPs (TdPIP1.1 et TdPIP2.2)	85
Discussion	87
Conclusion	93
Conclusion générale et perspectives	94

Chapitre 5 : Valorisation et productions scientifiques

Article	
Résumés des communications	97
Références bibliographiques	104
Annexes	

Introduction générale

Introduction générale

L'eau est le principal facteur abiotique limitant la production végétale dans plusieurs régions du monde, avec la croissance des cultures et du rendement économique ces régions sont durement affectées par la disponibilité de l'eau. (Tambussi et *al.*, 2007).

L'utilisation de l'eau (eau consommée) et l'efficacité de l'utilisation de l'eau (EUE en termes général, l'efficacité de l'eau consommée pour produire de la biomasse ou du rendement) sont deux paramètres critiques où l'eau est rare comme dans les régions semi-arides au climat méditerranéen, dans ces régions là il ya un besoin urgent d'accroître l'efficacité de l'utilisation de l'eau en conservant l'eau perdue par la transpiration ainsi que l'eau perdue dans le secteur de l'agriculture qui est considéré comme le secteur le plus consommateur des ressources disponibles d'eau avec 80-90% . Cependant, la moyenne des pertes dans les projets d'irrigation suggère que seulement 45% de l'eau extraite ou fournie atteint la culture (Hamdy et al , 2003).

Jusqu'à maintenant la conservation de l'eau et l'efficacité de l'utilisation de l'eau n'ont pas reçues l'attention qu'elles méritent. Comme l'agriculture est le secteur le plus consommateur de l'eau, la gestion et l'efficacité de l'utilisation de l'eau sera sans doute une option majeure de conservation dans le futur, plusieurs stratégies seront nécessaires pour améliorer la productivité de l'utilisation de l'eau dans l'agriculture. (Wang et al., 2003). La création de nouvelles variétés plus efficaces dans leur utilisation de l'eau est une des stratégies utilisées. D'autres incluent une meilleure gestion des ressources en eau et des changements dans la gestion des cultures. De plus, les gains les plus importants seront obtenus grâce à des approches complémentaires impliquant chacune d'entre eux.

Les céréales occupent à l'échelle mondiale une place primordiale dans le système agricole. elles sont considérées comme une principale source de la nutrition humaine et animale (Slama et al., 2005). Le blé est une céréale importante en termes de consommation intérieure dans de nombreux pays du monde. En terme de production, la culture de blé reste très dépendante des conditions climatiques. La production du blé en région méditerranéenne est fortement influencée par les stress abiotiques incluant la sécheresse. la compréhension des caractères biologiques complexes qui déterminent l'adaptation du blé au climat, est une perspective intéressante, qui pourrait contribuer à la gestion de l'impact du changement climatique (Bousbaa.,2012).

Dans les milieux arides et semi-arides les stress abiotiques imposent des limites au développement de la plante. La résistance à ces stress est dépendante du génotype qui développe des mécanismes morphologiques, physiologiques et/ou biochimiques pour échapper (esquiver), éviter ou tolérer la contrainte (Levitt, 1982).

L'amélioration de la résistance aux stress abiotiques a été depuis longtemps un des principaux objectifs de l'amélioration des plantes. De nombreuses études ont été conduites pour mieux comprendre les mécanismes impliqués et identifier les caractères qui peuvent être utilisés comme critères de sélection de la tolérance (Sinclair et Venables, 1983 ; Blum et al., 1996 ; Bajji et al., 2001 ; Richards et al., 2010 ; Fleury et al., 2010). Ces études ont permis de mettre en évidence plusieurs mécanismes impliqués dans la tolérance (Cushman et al., 1989; Cattivelli et al., 2002 ; Buitink et Leprince, 2008), où l'accumulation des protéines LEA et des HSP apparaissent comme des facteurs communs. La fonction des gènes, qui sous-tendent ces mécanismes et qui s'expriment différemment, au cours l'acquisition de la tolérance, n'est, cependant, pas entièrement élucidée (Rampino et al., 2006).

Le stress induit une diversité de réponses qui résultent de l'expression génique et des modifications du métabolisme cellulaire, se traduisant par une variation de la croissance et du développement de la plante. L'adaptation de la plante s'accompagne par une série complexe de réactions enzymatiques conduisant à l'évitement ou à la réduction des dommages susceptibles d'être causés, par le stress, à la cellule, et par là même à la plante entière .La cascade de réactions moléculaires se déclenche dès que la cellule perçoit le stress (Neffar.,2011).

Les gènes impliqués dans la réponse à la contrainte abiotique, qu'ils soient induits ou réprimés, codent pour une large gamme de protéines assurant diverses fonctions. Parmi ces fonctions, il y a la stimulation et la régulation du signal de transduction, la régulation de l'expression des gènes induits directement dans la réponse au stress, la protection et le maintien des fonctions et structures cellulaires. Toutes ces fonctions conduisent vers l'amélioration de la tolérance vis-à-vis des stress abiotiques (Neffar.,2011).

Notre travail s'intègre dans le contexte général qui s'inscrit dans la continuité des travaux précédents réalisés au laboratoire de Génétique, Biochimie et Biotechnologie Végétale (GBBV) par (Ykhlef et al., 1998 et Ykhlef.,2000 ; Bousba et al.,2009 ; Moulef,2010 ;Hamla et al.,2014). Ces travaux ont permis d'évaluer les aspects morphologiques, physiologiques, biochimiques et moléculaires de la réponse de blé dur à la contrainte hydrique.

Notre travail consiste à poursuivre les recherches initiées sur l'efficacité de l'utilisation de l'eau chez le blé dur (Ykhlef et al. 1998 et bousbaa et al., 2009), afin d'approfondir les connaissances sur les mécanismes morphologiques et physiologiques de la réponse de blé dur à un déficit hydrique. Sur le plan moléculaire, notre travail consiste à soutenir les travaux menés par (Hamla et al., 2014) qui ont fourni un point de départ de la compréhension des mécanismes moléculaires de la tolérance à la sécheresse chez le blé dur en se focalisant sur l'expression des gènes de réponse au stress hydrique codant pour " les Aquaporines".

Ce travail repose sur deux objectifs majeurs :

1. **Au niveau physiologique**, l'objectif de cette recherche consiste à étudier les mécanismes physiologiques de l'efficacité de l'utilisation de l'eau chez le blé dur en se focalisant sur les traits morpho-physiologiques fortement liés à l'efficacité hydrique en condition de stress hydrique.
2. **Au niveau moléculaire**, la présente contribution a consisté à étudier l'implication de deux isoformes d'aquaporines TdPIP1.1 et TdPIP2.1 dans la régulation de l'état hydrique des plantes dans des conditions déficitaires en eau.

Chapitre 1.

Synthèse bibliographique

I. La culture de blé

1. Présentation

Le "**Blé**" est un terme générique qui désigne plusieurs céréales appartenant au genre *Triticum*. Ce sont des plantes annuelles de la famille des graminées ou Poacées, cultivées dans de très nombreux pays. Le blé est une monocotylédone, fait partie des trois grandes céréales avec le maïs et le riz. Les deux espèces les plus cultivées sont le blé dur (*Triticum durum*) et le blé tendre (*Triticum aestivum*), Le blé dur est une espèce connue depuis la plus haute antiquité. Elle appartient au groupe tetraploïde, du genre *Triticum* qui comprend de nombreuses espèces (Bsoubaa., 2012).

Cette céréale occupe la première place en termes de production mondiale et la deuxième après le riz, comme source de nourriture pour les populations humaines. L'importance des superficies qu'elle occupe ainsi que son poids dans la sécurité alimentaire, font du secteur céréalier l'un des plus importants secteurs de production agricole (Amor et *al.*, 2005).

On distingue principalement deux espèces de blés :

Le blé tendre (*Triticum aestivum ssp aestivum*) hexaploïde possédant trois génomes apparentés A, B et D, comportant chacun 7 paires de chromosomes ($2n=42$), avec 16×10^9 pb. Il constitue un matériel difficile à étudier sur le plan génomique (Gupta et *al.*, 2002). Son albumen est relativement friable ce qui lui donne une aptitude à la transformation en farine.

Le blé dur (*Triticum turugidum ssp durum*, de l'anglais durum wheat) est une plante de la classe des monocotylédones de la famille des Graminées, de la tribu des *Triticées* et du genre *Triticum* (Feillet., 2000). Elle appartient à un ensemble de taxon tetraploïde, possédant deux génomes A et B ($2n=28$) (Battaillon et *al.*, 2006). Son albumen dur, la rend plus apte à donner des semoules qui sont à leur tour utilisée pour la fabrication de pâtes alimentaires.

Cette Graminée annuelle est de hauteur moyenne, le limbe des feuilles est aplati, le système racinaire comprend des racines séminales et des racines adventives. Elle possède une tige cylindrique, dressée, habituellement creuse et subdivisée en entrenœud (certaines variétés possèdent toute fois des tiges pleines). Le nombre de brin dépend de la variété, des conditions de croissances et de la densité des cultures. La tige principale et chaque brin porte une inflorescence en épi terminal.

2. Impacte de la culture de blé sur l'économie

Le blé est la première céréale cultivée au monde. En effet, cette céréale est un composant essentiel du régime alimentaire de nombreux pays, elle est considérée comme étant la première source de glucides et de calories quant à ces protéines, elles constituent elles aussi la majeure partie des protéines consommées dans de nombreuses régions sous développées (Hamla, 2015). Contrairement aux autres fruits et baies, le blé doit être préalablement transformé avant d'être consommé. On distingue alors :

-Les produits de première transformation céréalière : farines, semoules, grains décortiqués ou abrasés, flocons, malt.

-Les produits de deuxième transformation céréalière issus de la panification (pizza, pains à hamburger, viennoiseries, biscuiteries, pâtisseries), la pastification, la crêperie, l'amidonnerie. Les programmes d'amélioration du blé dur visé jusque la sélection des lignées uniquement pour leur aptitude à la pastification. Des essais montrent que la sélection en fonction de la qualité boulangère permet l'obtention de variétés de blé dur à double usage pastification et panification. Ce ci rend compte de la place capitale qu'occupe le blé dans notre alimentation, encore plus suite à l'expansion du marché de la restauration rapide (fast food et autre), ce qui pousse les industrielle, face à ce marché très lucratif à être de plus en plus exigeant en terme de qualité et de quantité et ceux malgré les contraintes posées par le réchauffement climatique (Dexter.,2008).

Au niveau mondial, le rendement du blé a perdu un peu plus de 5 % entre 1980 et 2010 par rapport à un climat qui n'aurait pas été perturbé. Et pour ce qui est de l'avenir, nous avons désormais un certain nombre d'études qui soulignent la sensibilité des grandes cultures (riz, maïs, blé, etc.) à des températures diurnes de l'ordre de 30 C°. Un certain nombre d'infections fongiques ou de pathologies véhiculées par des insectes vont se renforcer sur les cultures, en particulier en Europe (Soussana.,2014).

L'agriculture mondiale est confrontée à l'impact probable du réchauffement planétaire. Des études récentes suggèrent que la production de produits majeurs a décliné depuis 1980 à cause du réchauffement planétaire (Lobell et al. 2011). On estime que, face aux tendances actuelles du réchauffement climatique en Afrique sub-saharienne, la production de céréales majeures pourrait décliner jusqu'à 20 % d'ici le milieu du siècle (Schlenker et Lobell 2010).). Selon une étude récente, les coûts annuels de l'adaptation au changement climatique dans le secteur agricole devraient atteindre plus de 7 milliards USD (Nelson et al. 2009).

2. le blé dans le contexte national

En Algérie, les produits céréaliers occupent une place stratégique dans le système alimentaire et dans l'économie nationale. Cette caractéristique est perçue d'une manière claire à travers toutes les phases de la filière (Djermoun.,2009).la filière céréales et ses dérivés constitue l'épine dorsale du système alimentaire algérien, et elles fournissent plus de 60% de l'apport calorifique et 75 à 80% de l'apport protéique de la ration alimentaire. C'est ainsi, au cours de la période 2001-2003, les disponibilités des blés représentent un apport équivalent à 1505,5 Kcal/personne/jour, 45,533 gr de protéine /personne/j et 5,43 gr de lipide/personne /J.

Cette importance résulte, notamment, de la place prépondérante qu'occupent les céréales et leurs dérivés dans l'alimentation humaine, notamment la semoule (couscous et pâtes) et la farine (pain), comme dans l'alimentation animale. Elle est traduite, au niveau des chiffres, par une demande, toutes céréales confondues, évaluée, en équivalent grains, à environ 228 Kg par an et par habitant, soit environ 177 à 180 Kg par habitant en équivalent semoules et farines (Bousba.,2012).

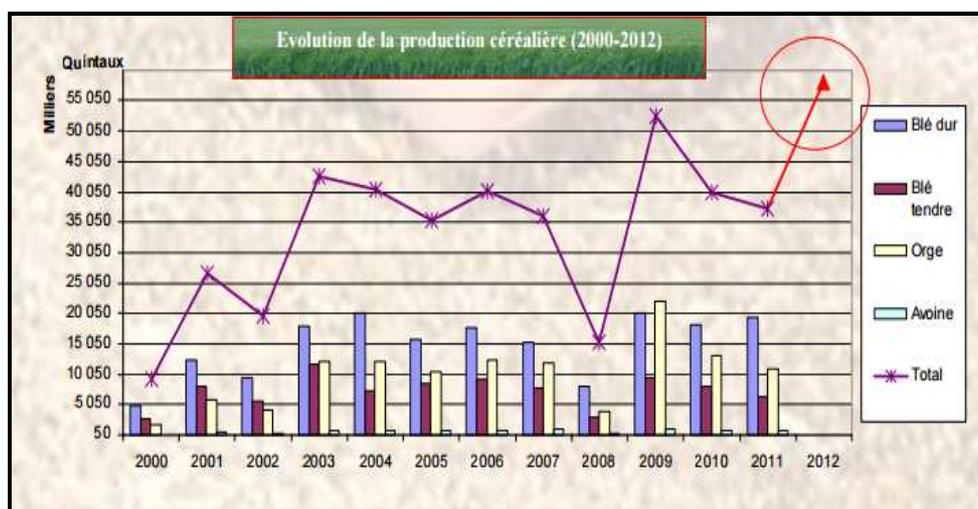


Figure 01. Evolution de la production céréalière en Algérie (2000-2012).source l'OAIC.

Cependant, la production céréalière en Algérie est fortement dépendante des conditions climatiques. Cela se traduit d'une année à l'autre par des variations importantes de la production et du rendement (Figure 01). Ainsi, le manque de précipitations, mais aussi la mauvaise répartition des pluies pendant l'année expliquent en grande partie la forte variation de la production céréalière.

Selon les derniers chiffres donnés par l'ITGC dans la campagne 2011/2012, la production céréalière s'est établie à 51,3 millions de quintaux dont plus de 58% en blé dur (Tableau 1)

Cependant, Les besoins nationaux en matière de céréales sont estimés à 80 millions de quintaux/an, ce qui classe l'Algérie comme l'un des plus importants pays importateurs de céréales (Benmati.,2014).

Tableau 1 : Surface, production et importation des céréales en Algérie de septembre 2003 jusqu'en mai 2012 (Bova, 2012).

Saisons (par année)	03/04	04/05	05/06	06/07	07/08	08/09	09/10	10/11	11/12
Surface (en mha)	2,9	3,0	2,6	2,7	2,9	1,5	3,2	3,3	3,1
Production (en mt)	4,3	4,0	3,5	4,0	4,3	1,7	6,1	4,7	4,3
Importation (en mt)	5,9	7,3	7,6	7,5	7,7	8,9	7,5	9,1	9,8

II. Sécheresse risques et stratégies d'adaptations

1. Conséquences du changement climatique

La conséquence majeure du changement climatique pour les agricultures tropicales et méditerranéennes sera l'accroissement des risques de sécheresse. Le consensus est quasi général sur l'existence d'un réchauffement climatique (augmentation de la température moyenne de surface de la Terre). Cette augmentation des températures a des effets directs sur la demande en eau (augmentation de la demande évaporative par accroissement du déficit de saturation de l'air), et des effets indirects par des impacts sur le cycle de développement des cultures (allongement de la période de végétation d'espèces pérennes et raccourcissement du cycle d'espèces annuelles...

L'adaptation au changement climatique des agricultures des pays pauvres doit être considérée comme une responsabilité de la communauté internationale. C'est d'ailleurs un des points des négociations climatiques. Or, cette adaptation passe en priorité par la maîtrise des

conséquences de la sécheresse. C'est pourquoi les investissements nécessaires doivent être engagés le plus vite possible, qu'il s'agisse de recherche ou d'aménagement (Gaufichon et al.,2010).

De manière générale, et au cours de leur développement végétatif, la consommation en eau des cultures est proche entre espèces cultivées lorsqu'elles sont soumises à un même climat. Ainsi, la consommation d'eau des cultures dépend majoritairement de la durée de leur cycle de développement et des événements climatiques survenus pendant ce cycle. Cependant, la sensibilité des espèces végétales à la sécheresse est inégale. Elle dépend à la fois du fonctionnement général des plantes, du stade de développement auquel le stress hydrique survient, et des méthodes culturales mises en œuvre par les agriculteurs. Dans le cas des céréales. Il est possible de les classer en fonction de leur sensibilité ou, à l'inverse, de leur tolérance vis-à-vis de la sécheresse :

- Certaines espèces comme le blé – qu'il soit d'hiver ou de printemps – ne sont pas particulièrement tolérantes au déficit hydrique, mais leur cycle cultural se déroulant pour l'essentiel pendant les périodes automnale et hivernale, le risque de déficit hydrique – et donc de stress hydrique – est faible. Elles sont considérées comme utilisant l'eau de manière efficace, puisque la demande climatique est faible pendant leur cycle de développement.
- D'autres espèces dont le cycle cultural couvre le printemps et l'été (en climat tempéré) ont une tolérance intrinsèque forte au stress hydrique, que ce soit pendant le développement de leur appareil végétatif, ou lors de la mise en place des organes reproducteurs. C'est le cas de l'orge ou du sorgho, qui peuvent être cultivés sans nécessité d'irrigation ;
- Enfin, le cas du maïs est à considérer en marge des autres céréales. Bien qu'il possède une efficacité d'utilisation de l'eau élevée, grâce à ses capacités performantes de croissance et à des mécanismes de réponses particulièrement efficaces lorsqu'il est soumis au stress hydrique au cours de son développement végétatif, le maïs est extrêmement sensible à la sécheresse au moment de la floraison et de la formation des grains (Gaufichon et al.,2010).

2. L'eau et son importance pour le végétal

L'eau 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. Une feuille est composée souvent de 80 à 90% d'eau et le bois fraîchement coupé peut renfermer 30 à 50 % d'eau. Il faut 1 500 litres d'eau pour obtenir 1 Kg de blé, 500 litres d'eau pour 1 Kg de maïs et 4 500 litres d'eau pour 1 Kg de riz (Bernard, 2006).

Elle est le milieu dans lequel a lieu la quasi-totalité des réactions biochimiques; elle joue le rôle de solvant, substrat et de catalyseur. Par la pression qu'elle exerce sur les parois, l'eau permet la turgescence cellulaire qui est indispensable au port érigé des plantes herbacées et à l'expansion cellulaire dans les tissus en croissance. La turgescence est également à la base des mouvements des organes (feuilles, étamines) et des cellules (stomates). A l'échelle de l'organisme, l'eau permet de véhiculer les substances nutritives, les déchets du catabolisme et des phytohormones (Martre, 1999). Dans les milieux émergés, la disponibilité en eau reste le facteur le plus limitant de la production et la gestion des ressources d'eau devient alors un des principaux déficit de l'humanité, notamment dans un contexte de changement climatique (Benbaaziz, 2011).

3. Transport de l'eau chez les végétaux

La caractérisation du statut hydrique des plantes requiert la possibilité de quantifier l'état d'énergie de la molécule d'eau, qui est défini par son énergie libre. Il est communément utilisé la notion de potentiel hydrique qui correspond à l'énergie libre de l'eau rapportée au volume molaire de l'eau. Le potentiel hydrique est exprimé en MPa et est défini par rapport à une solution d'eau pure dans les mêmes conditions de température et de pression atmosphérique, dont le potentiel est par convention égale à zéro. Cela signifie que le potentiel hydrique est toujours inférieur ou égale à zéro. Dans une cellule végétale, la valeur du potentiel hydrique est déterminée par deux principales composantes opposées : le potentiel de turgescence qui représente la pression mécanique exercée par la paroi végétale sur les molécules d'eau et dont l'intensité dépend de l'état de turgescence de la cellule.

Généralement, cette pression va contrer l'entrée d'eau dans la cellule. La seconde composante est le potentiel osmotique qui correspond à la force d'attraction exercée par les solutés osmotiquement actifs de la cellule (la vacuole) sur les molécules d'eau.

Pour circuler dans les tissus vasculaires, l'eau doit passer à travers les cellules vivantes. Deux voies de circulation sont possibles : une voie apoplasmique qui se fait à travers la paroi

cellulaire et une voie cellule- à cellule, qui se fait à travers les plasmodesmes (voie symplasmique) ou à travers la membrane plasmique (voie transcellulaire) (Chrispeels et Maurel, 1994 ; Maurel et Chrispeels, 2001). La voie préférentielle de la circulation de l'eau varie selon l'espèce, l'organe, l'état physiologique de la plante ainsi que la force exercée (hydrostatique ou osmotique) (Chrispeels et Maurel, 1994). Dans les racines de maïs et de coton, la voie apoplasmique serait dominante, par contre chez l'orge et l'haricot, l'eau circulerait selon la voie cellule-à-cellule (Steudle, 1992 ; Benbaaziz,2011).

4. Stratégies et mécanismes d'adaptation

Au cours de l'évolution, les plantes ont élaboré des stratégies afin de se protéger d'un stress hydrique modéré en mettant en place une série de réponses leur permettant tout simplement de survivre et d'assurer leur descendance. Ces réponses reflètent trois stratégies différentes :

- L'esquive est une adaptation à l'environnement qui permet aux plantes d'éviter les périodes critiques pour leur bon développement. Les agriculteurs utilisent cette stratégie des plantes pour placer le cycle cultural pendant des périodes où les conditions sont favorables. Il s'agit, par exemple, d'éviter les cultures d'été ou de développer des variétés à cycle de développement plus court dans le but d'éviter les périodes de l'année les plus stressantes pour les plantes. L'esquive ne peut se raisonner qu'à l'échelle de l'exploitation agricole et des systèmes de culture ;
- L'évitement permet aux plantes de limiter les effets du stress, grâce à des adaptations comme le flétrissement, ou encore l'enroulement des feuilles. Cette stratégie permet la survie au dépend de la productivité ;
- La tolérance permet un maintien des fonctions cellulaires indispensables à la survie de la plante grâce à des réponses spécifiques et ciblées telles que la régulation stomatique, l'ajustement osmotique, l'osmorégulation, etc...(Gaufichon et al.,2010).

Les différentes modifications morphologiques, physiologiques et biochimiques mises en jeu dans les mécanismes d'adaptation de la plante au déficit hydrique sont résumées dans la (figure 02).

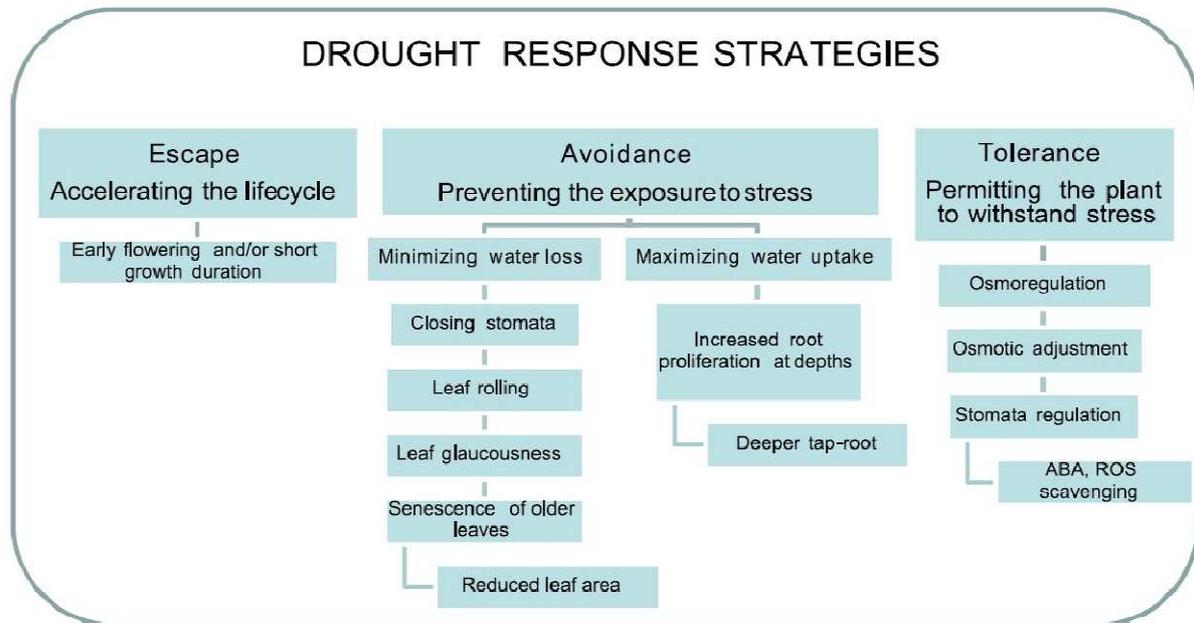


Figure 02. Mécanisme de réponse des plantes à la sécheresse et les caractères impliqués dans la réponse (Neffar, 2013).

4.1 Réponses physiologiques des plantes pour maintenir l'état hydrique

La masse d'eau contenue dans une plante est faible devant le flux d'eau qui la traverse au cours d'une journée d'été. La sécheresse « vécue par la plante » se définit par les conditions physiques de l'environnement immédiat de la plante : demande évaporative de l'air au niveau des feuilles et disponibilité de l'eau dans le sol au contact des racines (Tardieu et al., 2006 ; Maury et al., 2011). En revanche, l'état hydrique d'une plante est directement lié à la différence entre le flux d'eau entrant par les racines et celui qui s'échappe par les feuilles au même instant. Ce flux d'eau traversant la plante est conditionné à la fois par les conditions physiques de l'environnement de la plante, mais également par le contrôle « biologique » exercé par la plante sur le flux d'eau (via la fermeture des stomates par exemple). La caractérisation de l'état hydrique des plantes fait appel à la quantité d'eau et à l'état thermodynamique de l'eau dans le système considéré (plante, organe, tissu...). La quantité d'eau est généralement exprimée en valeurs relatives, et l'état thermodynamique de l'eau est exprimé en termes de potentiel hydrique Ψ (Turner, 1981). L'eau circule dans le sens des potentiels décroissants (du potentiel hydrique le moins négatif vers le potentiel hydrique le plus négatif). La mesure de Ψ a donc été largement utilisée pour étudier les transferts d'eau dans le système sol - plante - atmosphère (Boyer, 1985).

Le potentiel hydrique de la plante (Ψ_f) dépend du potentiel hydrique du sol (Ψ_s) et de la transpiration (T). Le potentiel hydrique du sol peut être approximé par la teneur en eau, et plus particulièrement par la fraction d'eau transpirable (disponible pour la plante) du sol (FTSW) (Maury et al.,2011).

4.1.1. Processus permettant à la plante de maintenir l'état hydrique

✚ La régulation de la conductance stomatique : réduire la transpiration par la fermeture des stomates

La régulation de la conductance stomatique reste le mécanisme majeur intervenant à court terme pour limiter les pertes d'eau: le potentiel hydrique foliaire sera maintenu d'autant plus longtemps que la fermeture des stomates est précoce. Celle-ci peut intervenir à des potentiels hydriques foliaires différents en fonction du génotype et du stade de développement (Maury et al.,2011). Si la fermeture des stomates n'est pas totale, en raison de la différence entre les coefficients de diffusion de l'eau et du CO₂ dans la feuille, la transpiration est plus réduite que l'assimilation nette : l'efficacité de l'eau est alors augmentée.

✚ La réduction de la croissance des parties aériennes

Le déficit hydrique se concrétise chez la plupart des espèces par un ralentissement de la mise en place de nouveaux organes aériens et par une réduction de la croissance des organes préexistants. Ces modifications résultent d'une diminution de la vitesse de division des cellules constituant les tissus végétaux et d'une modification des propriétés physico-chimiques des parois entourant les cellules qui deviennent plus rigides, ce qui empêche leur croissance. Ces processus, à plus long terme, limitent les surfaces d'échange entre la plante et l'air et donc les pertes d'eau par transpiration. La réduction de croissance ne serait pas une conséquence passive du manque d'eau dans les cellules mais une réponse contrôlée et programmée de la plante dont le résultat est d'anticiper les événements sévères de stress hydrique. Cette réponse est donc préventive et non subie (Virilouvet,2011).

✚ Le maintien de la croissance racinaire pour augmenter la quantité d'eau « transpirable » du sol

La croissance racinaire est réduite lors d'une contrainte hydrique, mais de façon moins marquée que celle des parties aériennes. L'optimisation de l'absorption d'eau est liée à un ensemble complexe de caractères morphologiques des racines (Maury et al.,2011). La croissance racinaire en conditions sèches peut être maintenue par l'ajustement osmotique qui limite la baisse du potentiel de turgescence (Turner, 1986).

Le maintien de la turgescence pour tolérer la déshydratation des tissus

Le maintien de la turgescence permet à la plante de maintenir ses fonctions physiologiques malgré une dégradation de l'état hydrique des tissus. Au niveau cellulaire, trois processus sont impliqués dans le maintien de la turgescence aux faibles Ψ_f : l'ajustement osmotique, l'élasticité des parois cellulaires et la répartition de l'eau dans la feuille entre l'apoplaste et le symplasme (Maury et al., 2011).

L'ajustement osmotique résulte de l'augmentation nette des solutés présents dans la cellule. Ceci induit la diminution du Ψ_s , avec une baisse de la valeur du Ψ_w de la racine par rapport à celui du sol, permettant à l'eau de circuler du sol vers la plante selon un gradient potentiel bien déterminé. L'adaptation osmotique entraîne des changements métaboliques qui altèrent le taux d'absorption ionique et la synthèse des composés organiques de faibles poids moléculaires. L'ajustement génère l'accumulation de solutés ou osmolytes compatibles tels que la proline, la glycine-bétaine, le mannitol, et les sucres, principalement, le glucose et le fructose (Umezawa et al., 2006).

Les solutés compatibles sont des composés organiques hautement solubles qui ne sont toxiques pour la cellule à de fortes concentrations et qui n'interfèrent pas avec le métabolisme cellulaire mais maintiennent l'équilibre osmotique entre les divers compartiments cellulaires, ils jouent le rôle d'osmoprotecteurs (Umezawa et al., 2006). Par contre les ions inorganiques, à de fortes concentrations, influent négativement sur les processus métaboliques, en se liant à d'autres molécules comme les cofacteurs et les substrats, changeant les propriétés fonctionnelles des enzymes (Benderradji et al., 2011 ; Neffar, 2013).

4.2. Approches de la tolérance aux stress hydrique

De manière générale, l'amélioration de la tolérance des blés dur (*Triticum durum* Desf.) et tendre (*Triticum aestivum* L.) à la contrainte hydrique se fait selon trois approches. La première approche et qui est la plus utilisée, est l'approche empirique. Dans cette approche le rendement grain, sous stress, est le critère de sélection. Elle est relativement efficace, dans la mesure où la plus part des variétés tolérantes actuellement connues ont été sélectionnée par cette approche (Benmahammed et al., 2010). Cependant, les cultivars tolérants sélectionnés par cette approche présentent le plus souvent un rendement faible, en milieux favorables, ce qui limite le gain de rendement (Neffar, 2013).

La seconde approche se base sur la variation de la physiologie de la plante en présence et en absence de la contrainte hydrique (Richards et al., 2010). Plusieurs critères physiologiques tels que la teneur relative en eau, l'intégrité cellulaire, la perte d'eau foliaire, le contenu en

proline, le contenu en sucres solubles, la translocation de assimilats, la discrimination isotopique du carbone, l'utilisation des indices de tolérances ont été proposées comme caractères liés à la tolérance (Adjabi et al., 2007 ; Rebetzke et al., 2008 ; Benmahammed et al., 2010 ; Richards et al., 2010). L'utilisation des caractères préconisés par cette approche, dans les programmes de sélection, est très limitée, suite à la lourdeur de leur mise en oeuvre sur des centaines de lignées en ségrégation (Richards et al., 2010 ; Neffar, 2013).

La troisième approche est relativement la plus récente et la plus étudiée actuellement, elle repose sur l'utilisation des marqueurs moléculaires. On sait que la plupart des traits associés à l'amélioration de la performance dans des environnements limités en eau sont complexes et de nature polygénique. Heureusement, des variations génétiques significatives pour les traits associés à la tolérance à la sécheresse semblent être disponibles dans le germoplasme de blé. Par conséquent, il sera utile de déployer un marqueur assisté de sélection (MAS) impliquant les QTL disponibles pour les traits liés à la sécheresse pour le développement du blé pré-élevé avec une meilleure tolérance au stress sécheresse (Gupta et al., 2017).

Un certain nombre d'études ont porté sur la cartographie des intervalles et les analyses d'association ont été déjà menées dans le blé (dans ces études, jusqu'à ~ 800 QTL / associations marqueur-trait (MTA) ont été rapportées). Ces QTL et les marqueurs associés sont répartis sur tous les 21 chromosomes de blé, avec un nombre maximum de QTL / MTA pour les traits physiologiques (429) Suivi des traits agronomiques (318) et des traits liés à l'architecture racine (23) (Gupta et al., 2017).

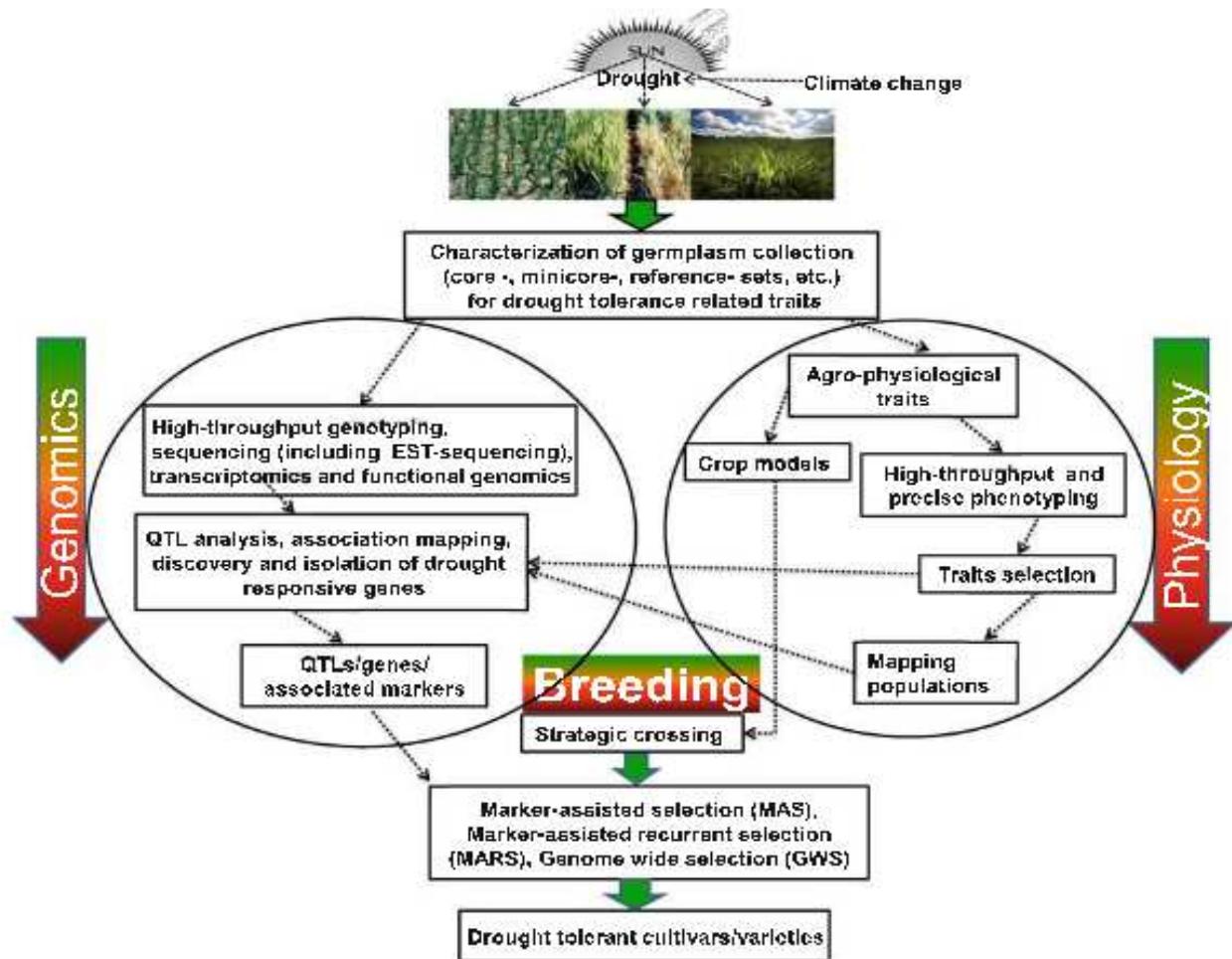


Figure 03. Une approche holistique pour l'intégration de la génomique, la physiologie et les approches de l'amélioration génétique pour le développement des variétés avec une meilleure tolérance à la sécheresse (Reyazul *et al.*, 2012).

L'utilisation des outils de la génomique fournissent des données utiles sur la variation de l'expression des gènes, des profils d'expression des protéines et des métabolites, en réponse à la contrainte hydrique. Ainsi Yamagushi-Shinozaki (2002) notent une similitude d'expression entre les gènes induits par le stress hydrique chez l'arabette et le riz. Cette similitude concerne la cascade des signaux de transduction, l'activation et la régulation de la transcription, la protection fonctionnelle des protéines LEA (Late_Embryogenesis Abundant proteins), des protéines chaperonnes HSP (Heat Shock Proteins) et l'accumulation des osmolytes telles que la proline, la glycine-bétaïne et le tréhalose.

Cette similitude suggère que les mécanismes qui sous-tendent la tolérance sont les mêmes chez les différentes espèces. L'expression de ces gènes reste, toutefois, dépendante du

génotype utilisé, de l'intensité et la durée du stress mises en oeuvre et de la nature du stress (Ergen et al., 2009 ; Neffar, 2013.). La comparaison des profils d'expression des transcrits des génotypes connus comme étant tolérants et ceux qui se montrent sensibles à la contrainte hydrique, montre de grandes différences d'expression.

4.3 Réponses moléculaires au stress hydrique

La biologie moléculaire propose des outils pour l'étude de l'expression des gènes et des protéines. La génomique fonctionnelle s'intéresse à l'ensemble des transcrits et des protéines. Elle étudie les méthodes d'analyse de l'expression des gènes et des protéines. En comparant l'expression des gènes et /ou des protéines, au sein d'un même organisme et sous diverses conditions de croissance, il est possible de prédire le fonctionnement des gènes induits (Neffar, 2013). Ces informations sont fournies par l'analyse des variations d'expression entre différents états physiologiques, différents stades de développement et différents tissus (Neffar et al., 2011). Deux approches sont utilisées pour comprendre les mécanismes moléculaires de la tolérance des stress. La première consiste à étudier les enzymes impliqués dans des voies métaboliques particulières alors que la seconde cherche à identifier des gènes exprimés de manière différentielle chez des plantes conduites sous stress et en l'absence du stress. Ces approches ont permis d'identifier de nombreux gènes de fonction connues (Mazzucotelli et al., 2008).

La cascade d'événements moléculaires conduisant au développement de la tolérance au stress comporte :

- ✚ La perception du signal de stress par les récepteurs de la membrane cellulaire qui captent les variations du milieu externe ;
- ✚ La transduction du signal du stress du cytoplasme vers le noyau cellulaire, suivie d'une cascade d'événements matérialisés par l'accumulation transitoire des ions Ca^{++} , l'activation des protéines de type kinases, l'accumulation de l'ABA et la modification de la structure de la membrane plasmique ;
- ✚ L'activation, dans le noyau, des facteurs de transcription associés à l'expression des gènes de réponse au stress ;
- ✚ L'expression des gènes du stress codant des protéines qui gèrent la situation de stress en réparant ou en maintenant l'homéostasie cellulaire (Yamaguchi-Shinozaki et al., 2002).

Les changements de l'expression génique qui se produisent au niveau cellulaire sont intégrés dans la réponse de la plante entière. L'importance et la rapidité de la réponse cellulaire au

stress dépendent de la durée et de l'intensité du stress (Yamaguchi-Shinozaki et al., 2002 ; Neffar, 2013).

4.3.1. Les déterminants moléculaires de la tolérance des plantes à la sécheresse

Un grand nombre de gènes qui répondent à la sécheresse au niveau transcriptionnel ont été décrits dans la littérature (Yamaguchi-Shinozaki.,2000 ;Seki et al., 2001, 2002 ; Watkinson et al., 2003 ; Oono et al., 200; Harb et al., 2010). L'analyse par microarray de la régulation transcriptomique par des stress hydriques modérés et progressifs sur des plantes d'*Arabidopsis* a indiqué que globalement 1/3 des gènes sont induits ou réprimés en réponse à la déshydratation (Harb et al., 2010). Ces gènes ne sont pas régulés en même temps et au cours des mêmes phases, ils n'ont donc pas tous un rôle dans la tolérance à la déshydratation ; certains pourraient être induits en raison des dommages provoqués par le stress .De la même manière que les fonctions des gènes impliqués dans la réponse au stress hydrique sont très variées, l'activation de ces gènes est sous le contrôle de nombreux facteurs. L'acide abscissique (ABA) intervient dans la régulation de l'expression de nombreux gènes lors d'un déficit hydrique .Les gènes induits par l'ABA sont souvent des gènes codants pour des protéines de type LEA - Late-Embryogenesis-Abundant (Wang et al., 2003) mais également des gènes impliqués dans la synthèse d'osmolytes et dans la perméabilité membranaire. L'induction des gènes non gouvernés par l'ABA est modulée par des facteurs de transcription dont les séquences les plus connues sont de type DRE (Dehydration Responsive Element). (Maury *et al.*, 2011).

Des molécules d'ajustement osmotique pour maintenir la turgescence

L'accumulation d'osmolytes (ou molécules d'ajustement osmotique) contribue à maintenir un équilibre osmotique au niveau cellulaire dans des conditions de déshydratation (Bray et al., 2000 ; Maury *et al.*, 2011.). Plusieurs exemples montrent une modification d'expression des gènes impliqués dans les voies de biosynthèse d'osmolytes en réponse au déficit hydrique. Par exemple, l'expression du gène de la P-5-C synthase (P- 5-CS) et la répression simultanée du gène de la proline déshydrogénase (ProDH) conduisent à une accumulation de proline pendant le déficit hydrique .Un transporteur (LeProT1) de la proline est également induit par le stress hydrique .Une accumulation de sucres solubles est également observée en réponse à la déshydratation chez de nombreuses espèces.

Ces derniers jouent un rôle déterminant dans l'ajustement osmotique, et aussi au niveau de la stabilisation de certaines protéines. L'accumulation de saccharose pendant le stress hydrique est observée chez *Craterostigma plantagineum* : la déshydratation induit la conversion du 2-

octulose en saccharose Cette conversion est corrélée à l'augmentation de l'expression des gènes du saccharose synthase (SUS) et du saccharose phosphate synthase (SPS). Ces deux enzymes (SUS et SPS) sont considérées comme principalement impliquées dans la régulation de la synthèse du saccharose (Maury *et al.*, 2011). Le rôle de la SPS dans l'accumulation de saccharose pendant le déficit hydrique a été démontré par une stratégie « anti-sens » chez la pomme de terre : l'augmentation de la synthèse de saccharose induite par le stress hydrique a été complètement supprimée chez les plantes « antisens » et ces dernières ont montré une sensibilité plus marquée à la contrainte hydrique (Geigenberger *et al.*, 1999 ; Maury *et al.*, 2011). Les osmolytes contribuent à l'ajustement osmotique, mais pourraient également être impliqués dans d'autres mécanismes associés à la tolérance au déficit hydrique, comme la détoxification des espèces réactives de l'oxygène ou « ROS ».

Des protéines impliquées dans la protection des structures cellulaires

Les protéines « LEA » (Late-Embryogenesis-Abundant) constituent un groupe important de protéines qui s'accumulent typiquement pendant les dernières étapes de l'embryogenèse, mais plus généralement en réponse à la déshydratation cellulaire induite par différents stress. Ces protéines induites par l'ABA pourraient jouer un rôle en protégeant les structures cytoplasmiques lors de la déshydratation (Maury *et al.*, 2011). Les déhydrines sont une famille immunologiquement distincte de protéines, également connue sous le nom de LEA D11, un sous groupe des protéines LEA, et ont été décrites dans de nombreuses espèces d'angiospermes et de gymnospermes. Un ADNc de déhydrine, HaDhn1, induit par le stress hydrique, a été isolé et séquencé chez le tournesol (Ouvrard *et al.*, 1996), et l'accumulation de ces transcripts a été corrélée avec la tolérance à la sécheresse (Cellier *et al.*, 1998). Schneider *et al.* (1993) ont montré que trois gènes, exprimés préférentiellement sous contrainte hydrique chez le *C. plantagineum*, codent pour des protéines chloroplastiques ('chloroplaste-localized Dehydration stress proteins'- DSP). Les études immunologiques ont indiqué que les deux protéines, DSP22 et DSP34, sont situées dans les thylakoïdes, et que la protéine DSP21 était localisée dans le stroma (Maury *et al.*, 2011). Ces protéines chloroplastiques seraient plus spécifiquement impliquées dans la protection des structures photosynthétiques en réponse à la déshydratation.

Des protéines membranaires pour modifier la conductivité hydraulique des tissus

Les plantes équilibrent leur état hydrique en ajustant la conductivité hydraulique de leurs tissus. Les aquaporines jouent un rôle significatif dans le transport cellulaire de l'eau (Maurel et Chrispeels, 2001 ; Tyerman *et al.*, 2002). Ces protéines membranaires peuvent réguler la

conductivité hydraulique et augmenter de 10 à 20 fois la perméabilité à l'eau des membranes (Maurel., 2001). Smart *et al.* (2001) ont montré que la répression de gènes codant pour des aquaporines est associée à une diminution de la perméabilité à l'eau des membranes et contribuerait à la conservation cellulaire de l'eau pendant des périodes de contrainte hydrique. En revanche, d'autres travaux indiquent que des gènes codant pour des aquaporines sont exprimés pendant le stress hydrique et contribuent à une augmentation du flux de l'eau (Yamaguchi-Shinozaki *et al.*, 1992 ; Yamada *et al.*, 1997). Des modifications anatomiques induites par la sécheresse permettent également de limiter les pertes d'eau au niveau foliaire. Trevino et O'Connell (1998) ont rapporté l'induction par la sécheresse de trois gènes codant pour des protéines non spécifiques de transfert de lipides (nsLTPs) chez *Lycopersicon pennellii*. Les produits de ces gènes sont impliqués dans la biosynthèse de la cuticule. L'expression spécifique de ces gènes dans les cellules épidermiques en réponse au stress hydrique permettrait à la plante de réduire les pertes d'eau par une augmentation de l'épaisseur de la cuticule (Maury et al., 2011).

III.L'efficience de l'utilisation de l'eau

1. Définitions

L'efficience d'utilisation de l'eau (EUE) a été définie différemment dans la littérature (Passioura, 1977; Turner, 1986). Étant une cible de production, l'efficience d'utilisation de l'eau pourrait être définie de plusieurs manières, selon les mesures et les unités de l'échange prises en considération. Toutes les définitions potentielles consistent en une certaine quantité de l'eau utilisée pour une certaine unité de production. (Condon *et al.*, 2004).

Elle est définie, pour la première fois en 1962, par Viets, comme le rapport de la matière sèche totale, ou du rendement en grains, par unité d'eau consommée.

Ce rapport qui exprime, en fonction de l'eau disponible, le potentiel d'assimilation photosynthétique de la plante, peut être lié à différents processus physiologiques comme la photosynthèse et les variations du statut hydrique (Ben Naceur et Ben salem., 2000).

Selon les agronomes, elle est définie comme étant le rendement à la récolte obtenu à partir de l'eau rendue disponible par les précipitations et/ou l'irrigation (Condon et al., 2004).

Pour les physiologistes, l'efficience d'utilisation de l'eau correspond au rapport entre le gain de carbone lors de la photosynthèse et la perte d'eau par transpiration.

2. Méthodologies de détermination de l'efficacité de l'utilisation de l'eau

L'efficacité de l'utilisation de l'eau reflète un équilibre entre les gains (Kg de biomasse produite ou moles d'assimilation de CO₂) et les coûts (m³ d'eau utilisée ou moles d'eau transpirée). Cet équilibre peut être mesuré à des échelles spatio-temporelles différentes (Medrano *et al.*, 2010). Les différentes échelles d'études de l'efficacité de l'utilisation de l'eau sont illustrées dans la figure 04.

- **A l'échelle de la plante**, l'efficacité de l'utilisation de l'eau WUE est estimée comme étant le rapport entre le taux de production de la biomasse et le taux de transpiration de la plante (WUEt), elle est par ailleurs connue sous le nom efficacité de transpiration ou transpiration efficiency (TE).
- **A l'échelle de la culture**, pour les agronomes WUE peut être exprimée par le rapport de la production de la biomasse total (B) ou le rendement récolté (Y) sur l'évapotranspiration totale (Ea) ou la transpiration de la plante (Ep).
- **A l'échelle de la feuille**, l'efficacité de l'utilisation de l'eau WUE est souvent définie comme le rapport (A/T) du taux d'assimilation nette instantanée du CO₂ (A) sur la transpiration (T).

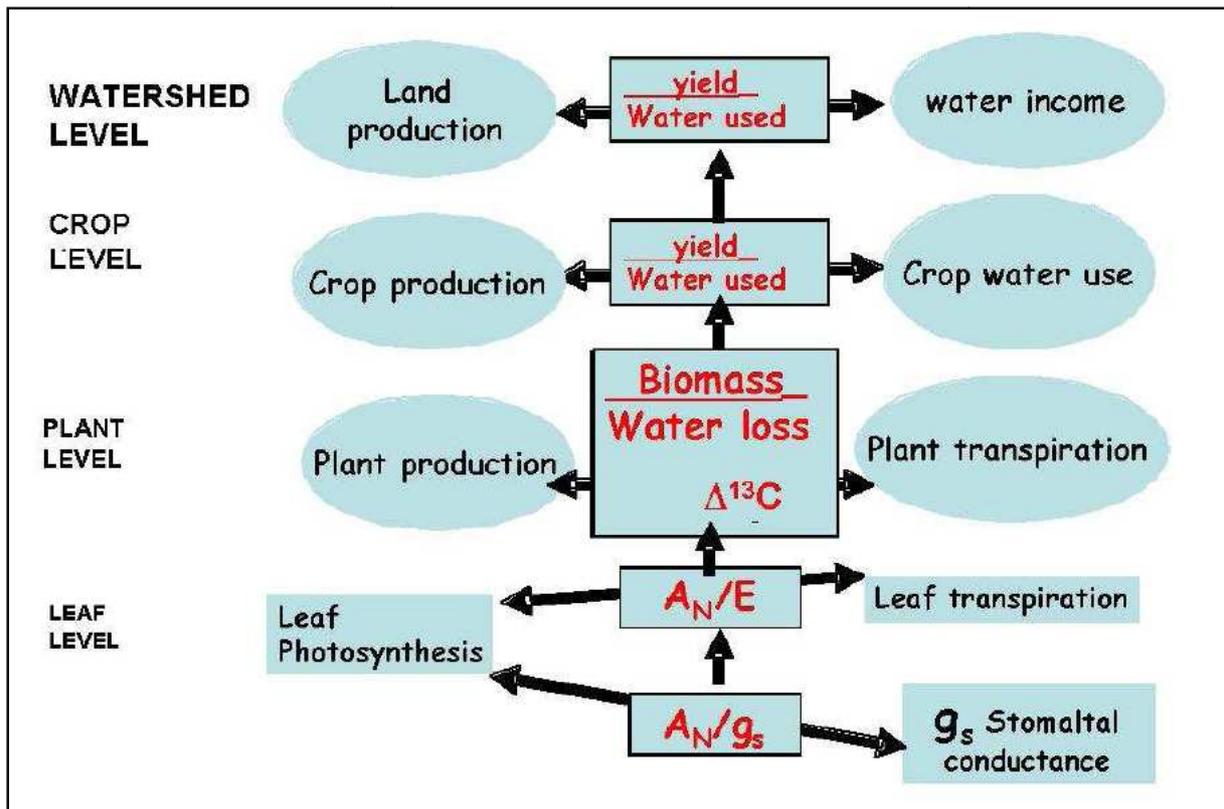


Figure 04. Échelles d'étude de l'efficacité d'utilisation de l'eau (Magdalena., 2012).

3. Amélioration de l'efficacité d'utilisation de l'eau

Sachant que l'eau est le facteur limitant pour la productivité végétale dans les environnements limités en eaux, l'amélioration de l'efficacité de l'utilisation de l'eau un processus important et qui nécessite un certain nombre de moyens, d'approches et de mécanismes physiologiques et moléculaires afin de répondre aux exigences des cultures céréalières étant la céréale la plus consommée dans le monde ça d'une part, et d'améliorer le rendement d'autre part.

Le tableau 02 résume les différentes approches ainsi que les techniques utilisées pour améliorer l'efficacité de l'utilisation de l'eau.

Tableau 2 : Résumé des différentes approches pour améliorer EUE avec leurs techniques et les cibles correspondantes, y compris celles pouvant être atteintes par l'agronomie / gestion et celles pouvant être atteintes par biotechnologie (Flexas et al.,2010).

Way to improve WUE	Technique/target	Reference(s)
Agronomy/management		
Reducing soil evaporation and runoff	Mulching	Buckerfield and Webster (2001); Hatfield et al. (2001)
Modifying root growth patterns + inducing partial stomatal closure and reduced plant transpiration	Vineyard inter-cropping	Monteiro and Lopes (2007); Gulías et al. (2008)
	Regulated deficit irrigation	Cifre et al. (2005); Costa et al. (2007)
Optimising light interception by the canopy and radiation use efficiency	Partial root drying	Dry et al. (2001); Chaves et al. (2007)
	Training system	Carbonneau (1980); Escalona et al. (1999a, 2003)
	Pruning	Williams and Ayars (2005)
Biotechnology		
Reducing leaf (and canopy) transpiration	Reducing cuticular conductance	—
	Reducing night and/or day stomatal conductance (ABA genes)	Nilson and Assmann (2007); Matus et al. (2008)
Optimising water uptake, transport and transpiration	Aquaporins	Kaldenhoff et al. (2008); Vandeleur et al. (2009)
Reducing carbon losses in respiration	Reducing alternative oxidase	Loomis and Amthor (1999), present review
Increasing photosynthesis at any given rate of transpiration	Increasing CO ₂ availability (aquaporin-mediated g _m)	Flexas et al. (2008), present review
	Increasing carboxylation efficiency (Rubisco specificity factor for CO ₂)	Parry et al. (2007), present review

3.1. Approche génétique

L'amélioration de l'efficacité de l'utilisation de l'eau est un objectif incontournable, outre les méthodes agronomiques, qui pourraient entraîner une réduction plus immédiate des besoins en eau, il y a un consensus général sur la nécessité d'explorer la capacité de sélectionner des cultivars avec une utilisation de l'eau améliorée. L'utilisation des paramètres physiologiques comme critères de sélection est d'un intérêt majeur pour l'amélioration génétique (Flexas et al., 2010).

Richards (2004) rapporte que la sélection pour des caractères à part la hauteur de la plante et la floraison est une approche indispensable, Les Progrès de la génétique et de la biologie moléculaire peuvent maintenant nous aider à exploiter la compréhension des réponses des plantes au stress dû au déficit hydrique. Cette combinaison peut entraîner un programme de sélection plus ciblée (par exemple ou la biotechnologie peut être utilisée avec la sélection classique) pour augmenter l'efficacité de l'utilisation de l'eau WUE (Morison et al , 2008).

La variation des caractères complexes, comme ceux qui contribuent à l'amélioration de WUE est la base pour les programmes de sélection (Gur et Zamir 2004). L'identification de cette variation peut conduire à l'association statistique du trait de certaines régions polymorphes particulières du génome de la plante. Ces régions sont appelées «quantitative trait loci « QTL ».

La sélection assistée par marqueur (SAM) améliore l'efficacité des programmes de sélection en particulier lorsque les caractères complexes sont impliqués. Ces techniques ont été utilisées pour isoler les gènes responsables de QTL (Quantitative Trait Loci), la sélection assistée par marqueurs (SAM) améliore l'efficacité des programmes de sélection en particulier là où les traits complexes sont impliqués. ((Morison et al., 2007). Par exemple, il peut être plus facile de suivre un marqueur d'ADN dans une population de ségrégation que de réaliser les tests physiologiques complexes nécessaires sur tout le matériel. La SAM est bien établie dans de nombreux programmes de sélection y compris la sélection pour la résistance à la sécheresse (e.g. Schneider et al. 1997; Subudhi et al. 2000; Serraj et al. 2005; Jongdee et al. 2006; Steele et al. 2006).

Un des meilleurs exemples de ces nouvelles approches est la production de nouvelles lignées de blé où la TE (l'efficacité de transpiration) a été améliorée. Dans des environnements particuliers en Australie, les lignées de blé dur sélectionnées pour un TE élevé en utilisant la technique de la discrimination des isotopes du carbone ont donné des variétés commerciales couramment utilisées (Richards 2004).

3.2. Pratiques de gestion Agronomique

Les pratiques appropriées de la gestion des cultures sont une procédure clé pour optimiser la production des cultures avec des approvisionnements en eau limités (Magdalena., 2012).

De point de vue agronomique, Hamdy et collaborateur (2003) suggèrent plusieurs méthodes pour l'amélioration de l'efficacité de l'utilisation de l'eau à savoir un semis précoce, l'utilisation des fertilisants azotés, l'inclusion des géotypes précoces, la densité élevée de plantation (Richards et al., 2001) et la bonne gestion des sols. La conduite des rotations offre également la possibilité d'augmenter l'utilisation de l'eau surtout que les racines de certaines espèces ont le potentiel de pénétrer plus profond dans le sol que d'autres. Dans les dernières décennies, les agriculteurs australiens ont adopté des aménagements afin d'obtenir une meilleure efficacité d'utilisation de l'eau (Tahi., 2008). Ces pratiques se résument dans

l'emploi des niveaux élevés des fertilisants spécialement l'azote et le phosphore, un labour minimal et l'usage des rotations afin d'améliorer la nutrition et la pénétration des racines chez les céréales (Turner, 1997).

Néanmoins, dans presque tous les cas, une amélioration de WUE provient d'une élévation du rendement plutôt que d'une bonne utilisation de l'eau. L'efficacité d'utilisation de l'eau reflète les multiples stimuli environnementaux perçus et la capacité des génotypes de percevoir l'état hydrique en réponse aux conditions environnementales. Les pratiques d'irrigation ont toujours provoqué un risque environnemental nuisible à travers un épuisement des réserves en eau de surface et souterraines, une salinisation des sols, un lessivage des nutriments. De tels problèmes peuvent menacer le maintien à long-terme de plusieurs surfaces irriguées. Certains de ces problèmes associés avec l'irrigation pourraient être minimisés en améliorant WUE (Tahi.,2008).

Une stratégie capable de corriger WUE en exploitant les mécanismes de réponse à la sécheresse chez certaines plantes pourrait être un outil très utile. En effet, le stress hydrique modéré induit une fermeture stomatique partielle, ce qui amènerait à une amélioration de WUE (Turner, 1997). Cette réponse serait due, d'une part, à la relation non linéaire entre la conductance stomatique et l'assimilation, et d'autre part, à un changement d'allocation des ressources en faveur du développement reproductif sous conditions de stress hydrique (Yang *et al.*, 2000 ; 2001). Une des méthodes les plus simples pour augmenter S'il est possible, WUE et le rendement est de semer les cultures tempérées aussi tôt que possible avant début de l'hiver si c'est possible. Cela améliore WUE depuis la récolte et la plante peut avoir développé un couvert complet d'ici l'hiver précoce ce qui entraîne une forte efficacité de transpiration(TE) (Richards et al 2002).

3.3. Approche moléculaire

L'efficacité de l'utilisation de l'eau (WUE) est devenue une cible importante dans nombreux programmes de sélection, les techniques moléculaires ont un grand potentiel pour disséquer les bases génétiques et fonctionnelles des caractères complexes, ces gènes qui étaient identifiés pour les manipuler efficacement. La génomique et le génie génétique offrent une gamme d'approches innovatrices, intégratives pour la biochimie et la physiologie des plantes ainsi que pour la sélection qui permet des possibilités pour le franchissement des barrières reproductives entre les espèces. (Bacon, 2004).

Les approches de la génomique ont fourni sur la base génétique des caractères affectant l'efficacité de l'utilisation de l'eau WUE dans les cultures annuelles, ce caractère amélioré par les techniques du génie génétique et les sélections assistées par marqueur (SAM) peuvent améliorer l'WUE et la performance de rendement dans des conditions limitées en eau.

Malse et collaborateurs (2005) ont identifié ERECTA, un gène qui régule l'efficacité de transpiration (Transpiration efficiency TE) par la réduction de la conductance stomatique et parallèlement le contrôle capacité photosynthétique de la feuille. Par ailleurs, une étude menée par (Shpak et al. 2005) a montré que le gène ERECTA ainsi que d'autres gènes de la même famille sont connus pour être impliqués dans le processus de la différenciation stomatique. (Morison et al.,2007).

Bien que des efforts importants soient faits pour améliorer le rendement par unité d'eau fournie, nous avons clairement besoin davantage de progrès. Cela signifie inévitablement qu'une amélioration nécessite la compréhension et les progrès accomplis dans l'agronomie, l'hydrologie, le génie agricole, la physiologie des plantes et la génétique moléculaire.

Cependant, le développement et la diffusion de nouvelles variétés avec des caractéristiques qui permettront d'améliorer la productivité de l'eau par la combinaison de la recherche physiologique, biotechnologique et agronomique qui vont contribuer avec la révolution bleue à une meilleure production agricole. (Morison et al.,2007).

IV .Les Aquaporines

1. Historique et phylogénie

Le passage de l'eau à travers les membranes biologiques a été longtemps considéré comme étant le résultat d'une simple diffusion des molécules d'eau à travers la bicouche lipidique. Plus tard, une évidence s'est imposée, selon laquelle le mouvement d'eau à travers les cellules vivantes se fasse par un flux à travers des pores dans la membrane (Sidel et Solomon, 1957). Plusieurs études menées sur les animaux et les végétaux ont supporté cette idée (Preston *et al*, 1992 ; Fushimi *et al*, 1993 ; Maurel *et al*, 1993). Ces pores ont été appelés les « aquaporines » (Agre *et al*, 1993).

Les aquaporines sont des canaux protéiques qui facilitent la diffusion de l'eau à travers les membranes cellulaires. Elles appartiennent à une large famille de canaux protéiques membranaires appelée MIP (Major Intrinsic Protein) (Chrispeels et Maurel, 1994 ; Agre *et al*, 1998). Les aquaporines ont été identifiées chez presque tous les organismes vivants (Maurel et Chrispeels, 2001). Dans les cellules animales, les aquaporines ont été découvertes dans les

membranes plasmiques de cellules spécifiques où le passage de l'eau joue un rôle important comme celles des tubules du rein (Fushimi *et al*, 1993) et des globules rouges (Preston *et al*, 1992). Chez les végétaux, les aquaporines ont été identifiées dans le tonoplaste (Höfte *et al*, 1992), dans la membrane plasmique (Kammerloher et Schäffner, 1993), mais également dans les nodules fixateurs d'azote (Johansson *et al*, 2000 ; Schäffner, 1998) et le réticulum endoplasmique (Johanson et Gustavsson, 2002 ; Ishikawa *et al*, 2005). (Ben Baaziz.,2011).

Jusqu'à présent, 35 gènes d'aquaporines ont été identifiés chez l'arabette des dames (*Arabidopsis thaliana*) (Johanson *et al*, 2001 ; Quigley *et al*, 2002), 36 chez le maïs (*Zea mays*) (Chaumont *et al*, 2001) et 28 chez la vigne (*Vitis vinifera*) (Fouquet *et al*, 2008).

En se basant sur leur homologie de séquence, les aquaporines peuvent être classées en 4 sous-familles (Maurel, 2007 ; Maurel *et al*, 2008) (Tableau 3).

Tableau 3 : Classification des Aquaporines

Sous-familles		Localisation	Homologues chez <i>Arabidopsis</i>	Littérature
TIPs	tonoplast intrinsic proteins	tonoplaste.	10	Höfte <i>et al</i> , 1992
PIPs	plasma membrane intrinsic proteins	Membrane plasmique	13	Kammerloher et Schäffner, 1993
NIPs	Nodulin 26-like intrinsic membrane proteins	membrane pér bacté rienne des nodules fixateurs d'N ₂ mais aussi chez des espèces non légumineuses	9	Johansson <i>et al</i> , 2000 ; Schäffner, 1998 ; Wallace <i>et al</i> , 2006
SIPs	Small basic intrinsic proteins	réticulum endoplasmique	3	Johanson et Gustavsson, 2002 ; Ishikawa <i>et al</i> , 2005

2. Structure moléculaire et mécanisme de transport

Les Aquaporines sont des protéines hydrophobes de poids moléculaire compris entre 23 et 31 kDa (Maurel *et al*, 2008). La caractérisation de leur structure moléculaire a permis de montrer qu'elles sont organisées en tétramère. Chaque monomère délimite un canal central individuel. (Ben Baaziz.,2011) .La chaîne polypeptidique de chaque monomère traverse la membrane six fois et présente les extrémités aminique (NH₂) et carboxylique (COOH) du côté de cytoplasme (Chrispeels et Maurel, 1994). On a ainsi une structure typique avec six domaines transmembranaires en hélice α formant 5 boucles (boucle A à boucle E) exposées à la face interne de la membrane (boucle B et D) ou à la face externe de la membrane (boucle A, C et E) (Maurel, 2007 ; Maurel *et al*, 2008).

Les Aquaporines présentent une structure typique en sablier avec une symétrie centrale. Selon ce modèle, les boucles B et E, qui présentent un motif hautement conservé Asn-Pro-Ala (NPA), se replient dans la membrane formant ainsi un 7^{ème} domaine transmembranaire constituant l'étranglement du sablier dans lequel les motifs NPA interagissent pour former avec les autres domaines transmembranaires le pore de l'aquaporine (Maurel, 2007) (Figure 5).Le transport des molécules d'eau se fait en file unique à travers le centre du pore, toute molécule plus grosse est exclue. La sélectivité du pore vis-à-vis de l'eau se fait au niveau de deux zones de constriction du pore : les résidus aromatiques/ Arg (R/Ar) et le motif NPA.

Au niveau d'une de ces constriction, la file des molécules d'eau traversant le pore est rompue empêchant ainsi le passage des protons (Maurel et al, 2008 ; Ben Baaziz.,2011).

3. Fonctions physiologiques

En plus du transport de l'eau qui est leur fonction principale, les aquaporines peuvent également assurer le passage de petits solutés neutres tels que : le glycérol (Agre et al, 1998 ; Biela et al, 1999), l'urée (Gerbeau et al, 1999), le formamide, l'acétamide (Rivers et al, 1997), le bore (Takano et al, 2006), le silicium (Ma et al, 2006) et l'acide lactique (Choi et Roberts, 2007). Chez les plantes, elles peuvent aussi assurer le transport de substances gazeuses telles que le CO₂ (Uehlein et al, 2003) ou l'ammoniaque (Holm et al, 2005).

Chez les plantes, les aquaporines sont localisées dans la majorité des organes de la plante et interviennent dans plusieurs processus physiologiques. Plus généralement, les aquaporines jouent un rôle très important dans les mécanismes de croissance et de développement. A titre d'exemple, il a été démontré chez *Arabidopsis thaliana* que l'aquaporine γ -TIP est hautement exprimée durant l'élongation cellulaire. (Ben Baaziz.,2011) .

Plus intéressant, les aquaporines interviennent dans la réponse au divers stress biotiques ou abiotiques que peut subir la plante (Maurel et Chrispeels, 2001). Dans ce contexte physiologique, l'expression des ARNm des PIP peut être affectée aussi bien que l'abondance des protéines PIP (Ben Baaziz.,2011).

Les plantes sont donc capables de moduler l'expression de leurs gènes d'aquaporines en réponse à divers stimuli externes tels que la salinité, la sécheresse, la lumière, le stress nutritionnel et le froid (Ben Baaziz.,2011).

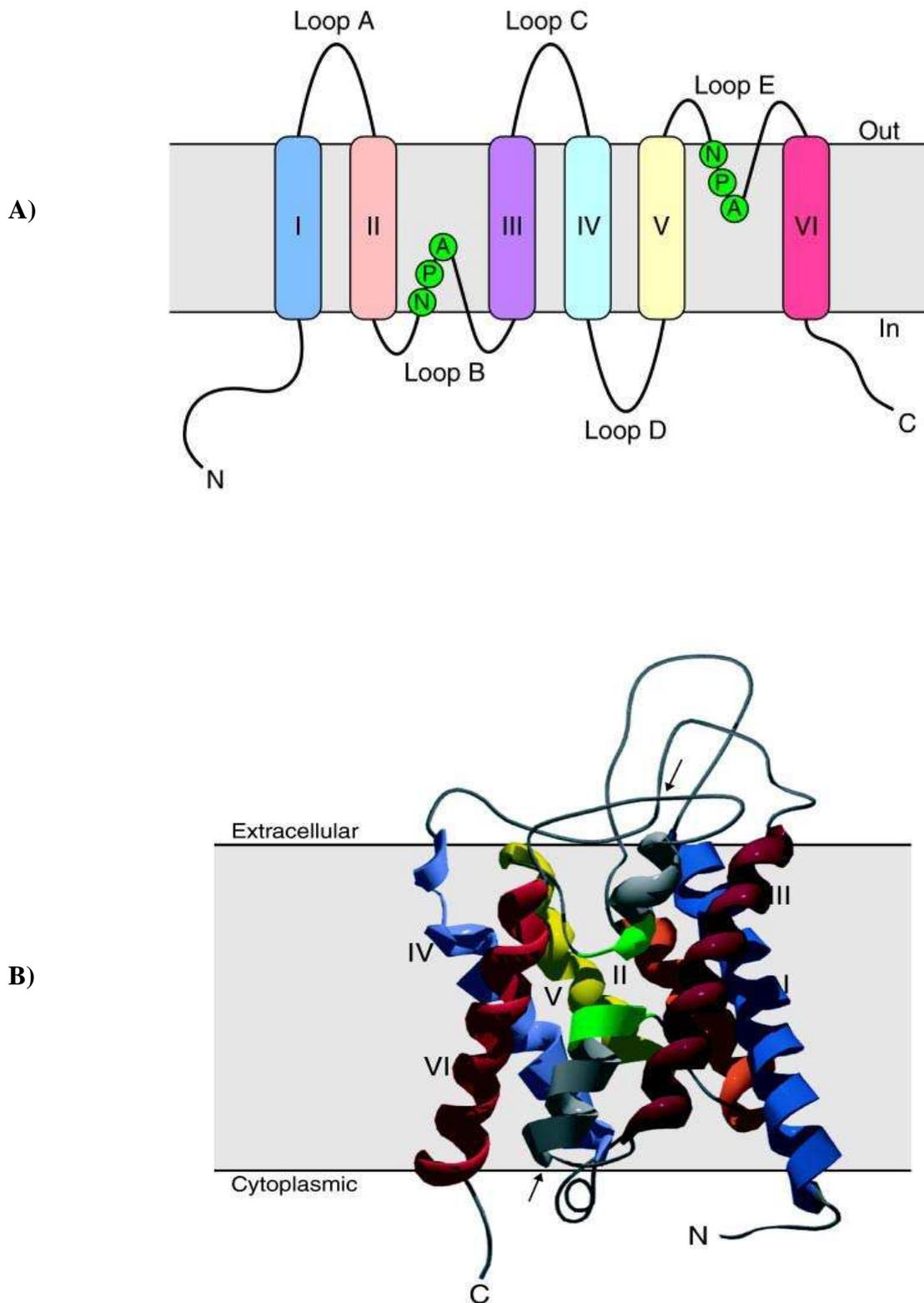


Figure 05 : **A)** Topologie d’une aquaporine à travers la membrane. Les 6 domaines transmembranaires (I-VI) sont reliés par 5 boucles (A-E), les boucles B et E contiennent des motifs conservés NPA **B)** Structure tridimensionnelle d’un monomère d’aquaporine de tabac (*NtAQPI*) montrant les 6 domaines transmembranaires (I-VI), les deux domaines formant le pore (flèches) et les motifs NPA (en vert). La figure a été obtenue grâce au programme MODELLER7v7 et Swiss-Pdb Viewer. (Kruse *et al*, 2006).

V. Notion d'ideotype

1. Définition

On définit un ideotype comme un modèle nouveau de plante qui, en conditions de culture, utilise mieux que les types actuellement connus les ressources du milieu (lumière, eau, éléments minéraux) et en supporte mieux les aléas (adversités climatiques, parasitisme) afin de prouver un meilleur revenu (Donald ,1968). Un idéotype n'est pas un modèle a priori. Il peut se concevoir et même être remis en question, à la faveur d'observations et d'études physiologiques, génétiques ou agronomiques.

2. Types d'ideotype

On distingue trois types d'ideotype : l'ideotype d'isolement, l'ideotype de compétition et l'ideotype de cultures.

2.1. Ideotype d'isolement : c'est le type de plante modèle qui fonctionne mieux lorsque les plantes sont plantées séparément.

2.2. Ideotype de compétition : cet ideotype fonctionne bien dans une population génétiquement hétérogène. Dans le cas des céréales, cet ideotype est : de haute taille, feuillus, avec tallage libre, c'est une plante capable d'abriter du soleil à ses voisins moins agressifs.

2.3. Ideotype de culture : cet ideotype présente les meilleures performances à des densités de cultures commerciales parce qu'il est un mauvais compétiteur. Dans le cas des céréales, un idéotype de culture est en érection, des plantes faiblement tallage, avec de petites feuilles érigées.

- Les autres types d'ideotype sont : idéotype marché: inclut des traits comme la couleur des graines, la taille des graines, et la qualité de cuisson, etc.
- idéotype climatique: inclut des traits important dans l'adaptation climatiques tels que la chaleur, la résistance au froid, la durée de maturité, de la résistance sécheresse etc.

3. Approches et outils pour la conception d'idéotype

Produire des idéotypes variétaux adaptés à une agriculture durable représente un défi pour les généticiens et les écophysiologistes. Il s'agit de développer des plantes plus résilientes aux contraintes environnementales, a priori plus économes en intrants. Cependant, les protections contre les stress biotiques et abiotiques ont généralement un coût en termes de métabolisme.

Il ne s'agit donc pas à proprement parler de « tolérance », mais de la recherche d'un optimum entre protections et rendement maximum (Tardieu et Lafarge.,2012).

La caractérisation d'idéotypes adaptés repose sur une analyse fréquentielle du climat tel qu'il est ressenti par la plante, prenant en compte date de semis, durée du cycle ou composition du peuplement végétal (homogène ou en mélange).

Les recherches se dirigent vers une démarche en deux temps, d'une part l'analyse génétique de caractères impliqués dans la résilience aux conditions environnementales, aboutissant à une valeur agronomique d'allèles, d'autre part la construction d'idéotypes adaptés à une région donnée, fondée sur la combinaison de ces allèles.

Les modèles et les méthodes expérimentales mis en jeu pour ces deux étapes sont différents.

La première étape repose sur des plates-formes de phénotypage, permettant d'analyser génétiquement de grandes collections de plantes dans des conditions variées. Ces plates formes, en serre ou au champ, impliquent des conditions semi-contrôlées et des mesures intensives des conditions environnementales et des réponses des génotypes (Tardieu et Lafarge.,2012).

La seconde étape comprend une phase *in silico* de recherche d'allèles favorables à une situation donnée (prenant en compte les résultats de l'étape précédente), puis le test d'un nombre limité de combinaisons prometteuses dans des essais au champ, accompagné d'une étude fréquentielle issue de la simulation du rendement de génotypes portant différentes combinaisons d'allèles. Cette simulation permet de prévoir la fréquence à laquelle une combinaison d'allèles est favorable dans une région et un système de culture donnés.

Chapitre 2.
Matériel et méthodes

1. Matériel végétal

Ce travail a été réalisé sur dix variétés de blé dur (*Triticum Durum* Desf) locales et introduites de diverses origines fournis par l'institut Technique des Grandes Cultures (ITGC) de Constantine, (station El-Khroub). Ces variétés se caractérisent par des capacités agronomiques de productivité et de tolérance contrastée. Les génotypes utilisés sont répertoriés dans le tableau ci-dessus.

Tableau 4 : Les génotypes étudiés et leurs origines

Genotypes	Code	Origine	Essais
Waha	W	Algérie	01,02 et 03
Cirta	Cir	ITGC Constantine, Algérie	01,02 et 03
Beliouni	BEL	Algérie	01, 02 et 03
Bidi 17	Bidi	Algérie	01,02 et 03
Guemgoum R'khem	GGR	Algérie	01,02
Mohamed Ben Bachir	MBB	Hauts plateaux Est, Algerie	01,02 et 03
DjennahKhetifa	Dk	Alegrie /Tunisie	01 et 02
Simeto	Sim	Italie	01 et 02
Bousselam	Bous	ITGC Setif, Algérie	01 et 02 et 03
Rahouia	RAH	TIARET, Algérie	01 et 02

2. Conduite et organisation des essais

Afin de répondre à la problématique posée et mettre en évidence les différentes réponses, morpho-physiologiques, biochimiques et moléculaires des variétés de blé dur (locales et introduites) étudiées trois expérimentations en conditions semi-contrôlées ont été menées en appliquant trois régimes hydriques différents 95%,60% et 20%.

Les essais ont été réalisés au niveau du laboratoire de Génétique, Biochimique et Biotechnologie Végétale (GBBV), équipe de Biotechnologie et Amélioration des Plantes (BAP), Chaabet El Rassas, Université des Frères MENTOURI Constantine.

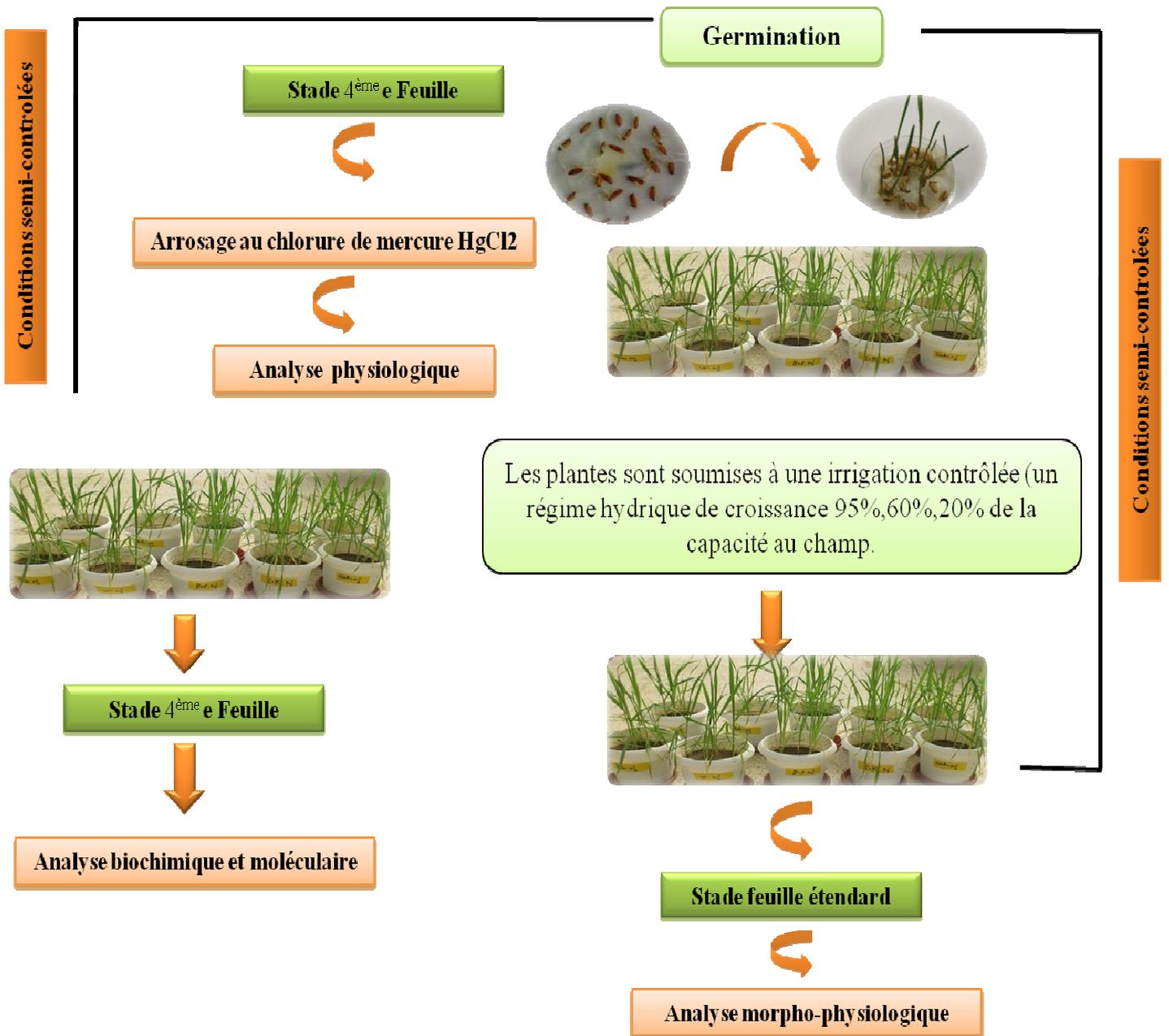


Figure 6. Schématisation de l'Organisation des essais

2.1. Étude de l'efficacité de l'utilisation de l'eau et des paramètres de l'état hydrique

Les graines ont été mises à germer sur papier absorbant dans des contenants en plastique puis placées à l'obscurité. Après germination, les plantules sont transplantées dans des pots en plastique avec un mélange de terre/ sable (3: 1), à raison 4 plantes par pot. La culture est conduite sous serre en conditions semi contrôlées avec une température de 25-32C° et une humidité relative de l'air 40-55%.

Les pots sont organisés dans une randomisation totale avec trois répétitions pour chaque traitement. Pour chaque génotype trois lots de six pots sont retenus. A partir du stade deuxième feuille, les trois lots définis sont soumis à trois régimes hydriques différents :

- ✓ Pour le premier régime, les plantes sont arrosées à 95% de la capacité au champ est considérées comme témoins.
- ✓ Pour le deuxième régime, les plantes sont arrosées à 60% de la capacité au champ.
- ✓ Pour le troisième régime, les plantes sont arrosées à 20% de la capacité au champ.

Les pots ont été pesés tous les deux jours à une précision de 0,01 g, et la quantité d'eau évaporée a été reconstituée. La perte d'eau due à l'évaporation a été minimisée en couvrant les pots avec du papier plastique transparent.

En fonction du régime hydrique imposé plusieurs paramètres physiologiques et morphologiques ont été mesurés sur deux stades de développements différents.

✓ **A partir du stade 4ème feuille**

Une analyse des paramètres liés à l'état hydrique a été faite, les paramètres suivants ont été mesurés : la teneur relative en eau TRE, le taux de déperdition de l'eau TDE, le potentiel osmotique PO, la conductivité électrolytique (Electrolyte Leakage EL).

✓ **A partir de la feuille étendard :**

A ce stade de développement, une évaluation de l'efficacité de l'utilisation de l'eau et ses composantes a été faite, les paramètres morpho-physiologiques ont été mesurés : efficacité de l'utilisation de l'eau (EUE), matière sèche totale (MST), eau utilisée(EU), la teneur relative en eau (TRE), la teneur en chlorophylle totale (SPAD Index), Conductance stomatique (gs), la température foliaire (TF), surface foliaire (SF) et le poids spécifique foliaire (Psf).

2.2 Effet de chlorure de mercure (HgCl₂) sur l'activité des Aquaporines

Après germination des graines de blé dur, les plantules sont repiquées dans des pots en plastique sur un mélange de terre/sable (3 : 1). Les pots sont disposés d'une manière aléatoire (randomisation totale) avec trois répétitions pour chaque traitement. On a maintenu une irrigation optimale jusqu'au stade 4^{ème} feuille, à ce stade les pots sont séparés en deux lots, le premier lot concerne les plantes ayant subi une irrigation optimale et le deuxième concerne les plantes qui ont subi une irrigation à saturation avec une solution de Chlorure de mercure HgCl₂ à différentes concentrations (50µM, 100 µM) (Voir Annexe 04) puis laisser drainer toute la journée. Le lendemain de l'application du traitement au mercure, le taux de transpiration et la conductance stomatique ont été mesurés.

2.3. Analyse biochimique et moléculaire de la réponse de quelques variétés de blé dur au un stress hydrique

L'étude a porté sur six variétés de blé dur citées dans (tableau 1).Après germination des graines, les plantules sont repiquées dans des pots en plastique sur un mélange de terre/sable (3 : 1). Les plantes sont irriguées à la capacité aux champs des pots jusqu'au stade 2^{ème} feuille, A partir de ce stade, les pots sont soumis à trois régimes hydriques différents de la capacité au champ 95% considéré comme témoin, 60% et 20%). Les pots sont disposés d'une manière aléatoire (randomisation totale) avec trois répétitions pour chaque traitement.

On a maintenu ce mode d'irrigation jusqu'au stade 4^{ème} feuille, à ce stade les plantes sont récoltées afin d'effectuer une analyse des protéines totale par SDS-PAGE.

Pour la quantification des deux gènes d'aquaporines TdPIP1.1 et TdPIP2.1 on a utilisé les feuilles et les racines des deux variétés Cirta et Bousslem ayant subies un stress sévère de 20% CC.

3. Description des méthodes

3.1. Paramètres physiologiques

Mesure de la teneur relative en eau

La teneur relative en eau est déterminée par le pourcentage d'eau présent dans la feuille étandard excisée à la base du limbe et immédiatement pesée (poids frais **PF**), l'extrémité sectionnée est trempée dans de l'eau distillée et portée à l'obscurité pendant 24heures afin d'obtenir un taux maximal de réhydratation. La feuille est retirée, passée dans un papier buvard pour absorber l'eau de la surface est pesée (poids de turgescence **PT**), la feuille est en fin séchée à l'étuve à une température de 75°C pendant 48 heures puis pesée une dernière fois

(poids sec **PS**). La teneur relative en eau (**TRE %**) ou (RWC), a été déterminée à partir de la formule de (Clarck et Mc-Caing ,1982) :

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

🚩 Mesure du taux de déperdition de l'eau (TDE)

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

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

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

🚩 Mesure du potentiel osmotique (PO)

Le potentiel osmotique du grec (osmose = poussée) qui tend à faire pénétrer l'eau du milieu hypotonique vers le milieu hypertonique. Donc le Po : dépend de la concentration des solutés dans les cellules. Les mesures ont été effectuées, sur des échantillons congelés, à l'aide d'un VAPRO® Vapor Pressure Osmometer 5600. Les échantillons prélevés sont décongelés, on extrait le jus, et à l'aide d'une micropipette on prend 10 µl de ce dernier, avec lesquelles nous allons imprégner les disques de papier filtre de 6 mm que nous allons insérer dans la chambre à échantillon. Dont la fermeture initialise la séquence des mesures automatiques. Le cycle de mesure requière 75secondes. Avant chaque série de mesures, on procède à l'étalonnage de l'appareil, la courbe d'étalonnage est réalisée à 25°C on utilisant une solution de Na Cl à (0.1, 0.2, 0.3, 1N), dont on connaît le (Ψ_0) en fonction de la température. Les lectures que nous donne l'appareil concernant la concentration de la solution de NaCl exprimée en mmol/mg. Pour définir le potentiel osmotique des feuilles on procède par l'équation suivante selon la loi de Vant'Hoff. :

$$\text{PO (Mpa)} = -RTC$$

R : constante des gaz parfaits

T : Température (exprimée en Kelvin)

C : Osmolarité donnée par l'osmomètre

Mesure de la conductivité électrolytique (Electrolytes Leakage EL %)

Le degré de dommage membranaire causé par l'application du stress hydrique a été évalué indirectement en mesurant la conductivité électrolyte, celle-ci est proportionnelle à la stabilité cellulaire (CellStability Membrane CMS) (Farooq et Azami,2001).

La conductivité électrolytique a été déterminée selon la méthode décrite par (Dkhil et Denden, 2012).les feuilles ont d'abord été lavées avec de l'eau distillée afin d'enlever tout résidu ou électrolyte pouvant adhérer a la surface puis coupées en petits disques de taille uniforme.les échantillons ont ensuite été émergée dans 10ml d'eau distillée et incubés à température ambiante. Après 24h la première conductivité C1 a été lue à l'aide d'un conductimètre. Par la suite, les échantillons ont été autoclavés à 120 C° pendant 20 minutes. La deuxième lecture (C2) fut effectuée après avoir laissé la solution refroidir a température ambiante, la conductivité a été déterminée à partir de la formule $EL \% = C1/C2$.

La teneur en chlorophylle totale (unité SPAD)

La teneur en chlorophylle a été déterminée à l'aide d'un chlorophylle-mètre de type SPAD. Les lectures ont été faites sur les feuilles complètement attachées aux plantes à raison de trois répétitions par génotypes et par traitement.

Mesure de la conductance stomatique

La résistance stomatique au niveau des feuilles est mesurée à l'aide d'un Poromètre type(AP4). La lecture se fait par l'insertion de la partie médiane de la feuille dans la pince (Herbinger et al., 2002).Les données de la résistance stomatique (rs) sont stockées dans l'appareil de mesure et ensuite transférées vers un ordinateur pour leur traitement. Les valeurs de la conductance stomatique (gs) ont été déduites à partir du rapport :

$$g(s) = 1 / (rs) \text{ mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$$

Mesure de la température foliaire

La température d'une surface végétale est la résultante de son bilan énergétique .en effet, une fois absorbée sous forme de rayonnement, l'énergie peut être principalement dissipée de deux manières : par un flux de chaleur latente (évapotranspiration) et un flux de chaleur sensible (échange de chaleur avec l'air environnant) (Kotchi., 2004).

La mesure de la température foliaire a été faite à l'aide d'un thermomètre infrarouge portatif. Le thermomètre est maintenu de manière à pouvoir détecter la température de la feuille uniquement, en évitant de sonder la température d'autres surfaces. Les mesures sont effectuées sur la feuille non détachée et estimée en degré Celsius (C°).

✚ Taux de transpiration (transpiration journalière)

Après application du traitement de chlorure de mercure $HgCl_2$, les pots des deux lots (témoins et traités au $HgCl_2$) sont laissés drainer toute la nuit. Après 24h de l'application du traitement, La transpiration de la plante entière a été déterminée par méthode gravimétrique durant la journée sur une période de temps de 1h à l'aide d'une balance électronique.

✚ La quantité d'eau utilisée (EU)

La consommation de l'eau par les plantes entre le stade 2ème feuille et le stade feuille étendard est évaluée par simple pesée(g). Les pots sont pesés quotidiennement afin de calculer la quantité d'eau perdue pour chaque pot et ainsi déterminer la transpiration. Cette quantité est restituée pour maintenir un niveau constant d'alimentation hydrique.

La matière sèche totale (MST)

Les plantes ont été récoltées au stade (feuille étendard), la matière sèche des parties de la plante (feuilles tiges, racines) est obtenue par passage à l'étuve à $85^{\circ}C$ pendant 24 heures. Ensuite, les plantes étuvées ont été pesées à l'aide d'une balance électronique.

✚ L'Efficacité de l'utilisation de l'eau (EUE)

L'efficacité de l'utilisation de l'eau a été évalué pour chaque traitement selon (Ykhlef,1998) à partir du rapport entre la matière sèche totale produite (MST) et les mesures de la quantité d'eau utilisée (EU) .

$$EUE \text{ (en mg.MST/g.EAU)} = MST /EU$$

3.2. Paramètres morphologiques

✚ Mesure de la surface foliaire

la surface foliaire en (cm^2) 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 ($1cm^2$)) de coté de ce même papier qui est également pesé (P ($1cm^2$)).

Enfin déduire la surface foliaire SF par la formule suivante :

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

Mesure du poids spécifique foliaire

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) :

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

3.3. Analyse biochimique et moléculaire

3.3.1. Extraction des protéines totales et analyse par SDS-PAGE

La technique d'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, un agent réducteur, le β -mercaptoéthanol est utilisé afin de réduire les ponts désulfures des protéines, rendant ainsi les protéines à l'état monomérique. Par la suite, l'acétone va permettre de précipiter les protéines vers le bas et de solubiliser les molécules organiques comme les acides gras ;...etc.

Cette technique permet de déterminer le poids moléculaire des sous unités formant une protéine ainsi que le degré de purification atteint à chaque étape (Jangpromma et al., 2007).

Pour réaliser cette technique deux gels sont utilisés : un gel de séparation et un gel de concentration, possédant des concentrations d'acrylamide bien spécifiques suivant les besoins de la séparation (Annexe 03).

➤ Extraction des protéines totales

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

-Broyer à l'aide d'un mortier et d'un pilon 100mg de feuilles 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.01)) et homogénéiser dans un tube Eppendorf de 1.5 ml.

-Laisser reposer pendant 1h à - 20°C.

- Centrifuger pendant 15mn à 4°C et à 13 000 rpm.
 - Eliminer 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.01))
 - Laisser reposer 1h à - 20°C puis éliminé 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 Laemmlibuffer (Annexe.01).
 - 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.

➤ **Séparation des protéines par électrophorèse SDS -PAGE**

➤ **Préparation des gels**

La séparation selon la technique SDS- PAGE fait appelle à deux types de gels : le gel de séparation et le gel de concentration (voir annexe 03).

➤ **Dépôt d'échantillons et migration**

Déposer 15-20 µl d'échantillons par puits à l'aide d'une microseringue. Un puits est réservé pour le marqueur de taille de poids moléculaires connus (Annexe 03). Les cuves sont remplies de tampon de migration (Annexe 02).

Les électrodes de la cuve sont reliées au générateur, une tension électrique de 80 mA est appliquée entre les électrodes (Dicko, 2006). Une fois la migration terminée, il faut attendre jusqu'à ce que le front de migration atteigne le bord inférieur des plaques (Approximativement 1h à 1h30). La migration se fait de la plus petite molécule de polypeptide à la plus grande molécule, la vitesse de migration de la dernière molécule est plus faible que la première, et la masse moléculaire est exprimée en KDa.

➤ Révélation des gels

La révélation est faite par coloration et la fixation pendant toute une nuit dans une solution de coloration (Annexe 02). La décoloration est réalisée par plusieurs rinçages à l'eau distillée.

➤ Exploitation des résultats

L'interprétation de ces gels est faite grâce à l'utilisation du logiciel Photocapt 8. Il calcule le poids moléculaire de chaque bande détectée, en effectuant une comparaison entre son rapport frontal et celui des différentes bandes du marqueur de poids moléculaire Kit LMW (Low Molecular Weight) (Tableau 1. Annexe.03). La présence des bandes est codée par « 1 » et leur absence par « 0 ».

3.3.2. Analyse et quantification de l'expression de deux gènes d'Aquaporines TdPIP1.1 et TdPIP2.1

Afin de vérifier le profil d'expression de deux gènes d'Aquaporines TdPIP1.1 et TdPIP2.1 dans des feuilles et des racines de blé soumises à un stress hydrique, des analyses de PCR en temps réel ont été menées. Pour ce faire on procède de la façon suivante :

- Extraction des ARN totaux
- Rtrotranscription des ARNm en ADN complémentaire (ADNc)
- Analyse de l'expression des gènes en qPCR

Extraction des ARNm (TRIZOL)

L'extraction de l'ARN a été effectuée suivant la méthode employée par (Rampino et al., 2006). Les échantillons ont été prélevés à partir des plantes stressées et non stressées et mises directement dans l'azote liquide. Les échantillons de 50-100 mg ont été préparés et homogénéisés en utilisant 1 ml de Trizol. Une fois homogénéisés, les échantillons sont incubés 5min à température ambiante.

Après on ajoute 200 µl de chloroforme et on agite pendant 15 sec. Les échantillons ont été incubés pendant 2-3 min à température ambiante puis centrifugé à 12000 rpm pendant 15 min à 4 ° C. après la centrifugation la phase aqueuse obtenue a été transférée dans un nouveau tube eppendorf contenant 500 µl d'Isopropanol. On Incube pendant 10 min à température ambiante.

Les échantillons ont été soumis à une centrifugation à 12.000 rpm 15 min à 4°C. Le surnageant a été éliminé. Le culot d'ARN a été lavé avec 1 ml d'éthanol (75 %). L'échantillon a été agité au vortex et centrifugé à 1200 tpm pendant 5 minutes à 4 ° C).

Après avoir jeté le surnageant, le culot a été séché pendant 15 à 20 min puis solubilisé dans 30 µl de H₂O DEPC. Enfin, les échantillons ont été incubés 10 min à 60° C. et conservés après à -80°C.

Purification de l'ARN

La purification de l'ARN a été effectuée sur colonne (The Spin column method) en utilisant le kit EZ-10 Spin Column Plant RNA Mini-Preps Kit (Annexe 05), les étapes de la purification ont été faites selon les instructions du fabricant.

Contrôle de la Qualité de l'ARN

L'intégrité des ARN est évaluée en utilisant le kit RNA 6000 Nano Lab Chip sur Bioanalyseur 2100 (Agilent Technologies, Inc.) (Figure 7) par mesure du RIN (RNA Integrated Number) (Schroeder, Mueller et al. 2006).

Comme la dégradation de l'ARN est un processus graduel, il existe en parallèle une diminution du ratio ARN ribosomal 18S / ARN ribosomal 28S et une augmentation du signal de base entre les deux pics ribosomiaux. Développé afin de standardiser le contrôle de la qualité de l'ARN, le RIN prend en compte la totalité d'un tracé électrophorétique d'un échantillon d'ARN. L'algorithme du logiciel de la machine restitue donc une valeur permettant la classification de l'ARN total eucaryotique, basée sur un système de numérotation de 1 à 10, 1 étant le profil le plus dégradé et 10 étant le profil d'un échantillon intact.

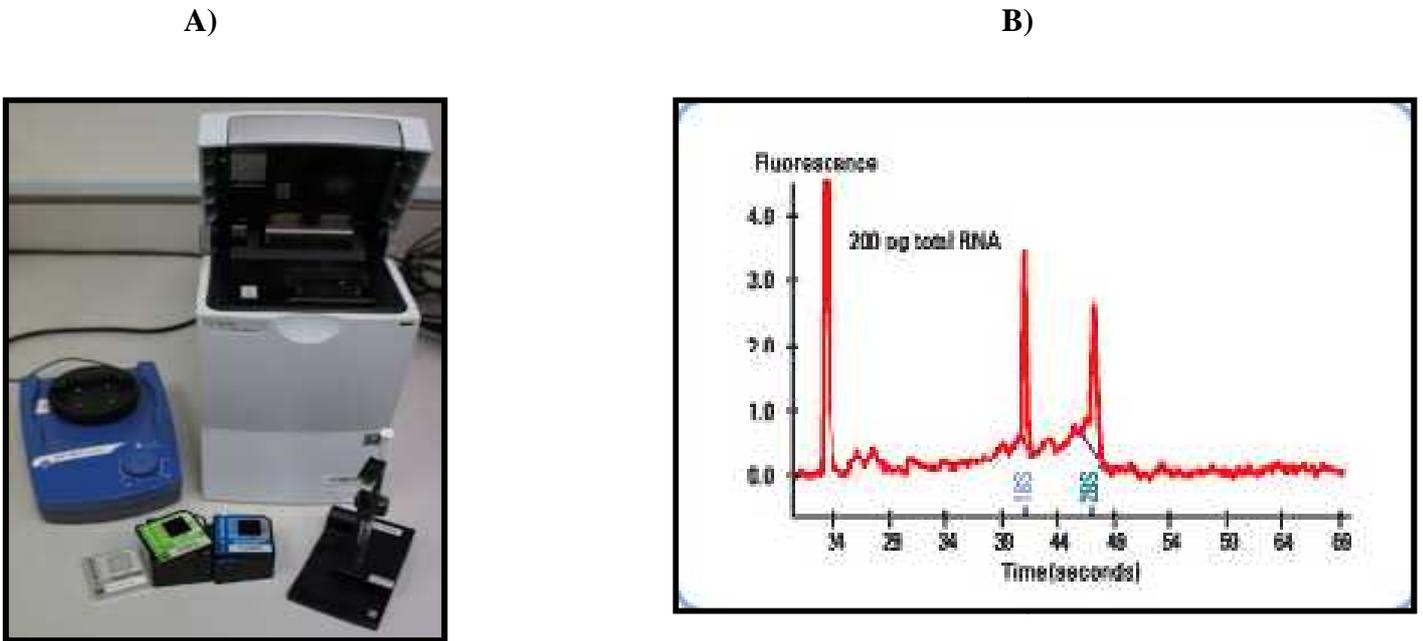


Figure 7 : A) Bioanalyseur 2100 (Agilent Technologies, B) Électrophorégramme détaillant les régions indicatives de la qualité de l'ARN. D'après " RNA Integrity Number (RIN) - Standardization of RNA Quality Control ".

✚ Transcription inverse des ARNm en ADNc

Principe

Le principe de la transcription inverse est de synthétiser un ADNc à partir d'une matrice d'ARN messager. Ceci est rendu possible grâce à une enzyme appelée communément transcriptase inverse. Cette technique permet de rétrotranscrire les ARNm en ADNc moins sujet à la dégradation, pour être amplifiés et mesurés par la suite par qPCR.

Il existe plusieurs types d'ARN : les ARN ribosomiques (ARNr), les ARN de transferts (ARNt), les ARN messagers (ARNm), les petits ARN nucléaires (ARNsn), les petits ARN nucléolaires (ARNsno).

Les ARNm, molécules monocaténaire, assurent la communication de l'information génétique entre le noyau et le cytoplasme. Après maturation, ils sont polyadénylés.

La fixation d'oligo-désoxyThymine (oligo-dT) à la queue polyAdénine (polyA) présente à l'extrémité 3' des ARNm va permettre à la transcriptase inverse de se fixer et de débiter la phase d'élongation.

Protocole

La synthèse d'ADNc simple brin est réalisée sur 2µg d'ARNtx en utilisant l'enzyme M-MLV Reverse Transcriptase (RNA-dépendent DNA polymerase).

Le mélange réactionnel de 25 µl contient :

- ✓ 6µg d'ARN tx
- ✓ 5 µl Buffer 5X
- ✓ 1 µl de Random primer
- ✓ 1 µl de l'enzyme M-MLV.
- ✓ Q.s.p 25 ml de H₂O.

Le mélange est incubé à 37°C pendant une heure. Après incubation le mélange est dilué 20X.

➤ **PCR en temps réel (real time PCR)**

La quantification relative des transcrits des deux gènes TdPIP1.1 et TdPIP2.1 est réalisée par la PCR en temps réel (qPCR). Cette technique repose sur la possibilité de suivre au cours du temps (« en temps réel ») le processus de PCR à l'aide de la fluorescence. Elle permet de suivre la quantité d'ARN présente dans la réaction à tout instant et non à la fin de la PCR (PCR classique).

A chaque cycle d'amplification, la quantité d'ARN est mesurée grâce à un marqueur fluorescent dont l'émission est directement proportionnelle à la quantité d'amplicons produits. Les amorces spécifiques correspondantes aux gènes d'intérêt et de référence sont indiquées dans le tableau 4. Ces amorces sont choisies à partir de séquences publiées (Ayadi et al., 2011) ayant démontré une amplification spécifique aux gènes cibles.

Les analyses de qPCR sont effectuées à l'aide d'un thermocycleur de type LightCycler® 480 (Figure 08) avec l'utilisation de la technologie SYBR Green. L'ARN extrait est dilué préalablement à son utilisation comme matrice dans la qPCR, afin de réduire les inhibitions potentielles en cours d'analyse. Le mélange réactionnel contient l'ADN matrice 2µL d'ADNc, un couple d'amorces spécifiques (le sens et l'antisens) à 100uM de chacune et 2 X de Power SYBR Green PCR Master Mix (Life technologies). Le volume final de la réaction est de 8 µL.

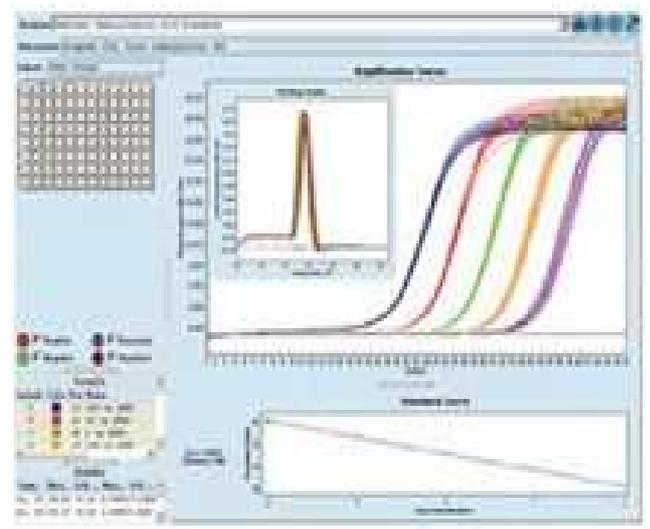
Tableau 5 : Amorces utilisées pour la PCR en temps réel

Gène	Amorce sens	Amorce anti sens	Tm(C°)
TdPIP1.1	TGATCTTCGCGCTCGTCTAC	CAAAAGTCACCGCTGGGTTG	59.4
TdPIPI2.1	GCACAAGGACTACTCCGACC	CGGTAGAAGGACCACATCCG	61.4
TdTub	AGTGTCTGTCCACCCACTC	AGCATGAAGTGGATCCTCGG	61.4

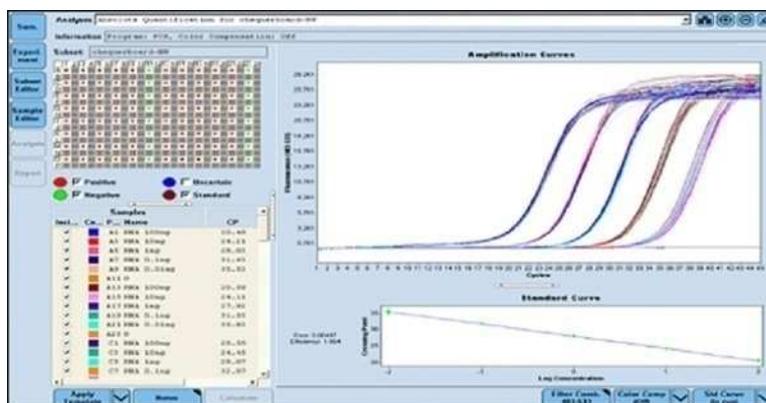
Le programme thermocycleur est le suivant: une dénaturation de 3min à 94 °C, suivi de 35cycles d'amplification et une élongation à 72 °C pour 20s).



A)



B)



C)

Figure 8 : A) LightCycleur 480 Roche B) la courbe de fusion indiquant la spécifié des amorces C) exemple d'amplification qPCR.

➤ Calcul et analyse des résultats

L'analyse des résultats de la qPCR est effectuée à l'aide du logiciel LightCycler® 480 Software, Version 1.5. Pour chaque gène étudié 3 répétitions techniques de la réaction PCR ont été élaborés ainsi que 3 répétitions biologiques.

La quantité relative des transcrits est calculée selon la méthode $2^{-\Delta\Delta CT}$ décrite par (Livak et Schmittgen, 2001) qui est calculée comme suit :

$$\Delta\Delta Ct = (Ct. \text{ gène cible} - Ct. \text{ gène de ref}) \text{ Control} - (Ct. \text{ gène cible} - Ct. \text{ gène de ref ref}) \text{ Stress}$$

Avec "Ct" pour "Cycle Threshold" ou cycle seuil.

4. Analyse des données

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

Afin de tester les différences entre les traitements et les génotypes, une analyse de la variance ANOVA a été réalisée. Les différences significatives des moyennes ont été testées avec le test de Newman-Keuls au seuil de signification 5%.

Les coefficients de corrélation entre les variables ont été calculés à l'aide du logiciel SPSS version 22.0 package.

Chapitre 3.

Marqueurs morpho-physiologiques de l'efficacité de l'utilisation de l'eau chez le blé dur en conditions de stress hydrique

Chapitre 3. Marqueurs morpho-physiologiques de l'efficacité de l'utilisation de l'eau chez le blé dur en conditions de stress hydrique

I. Etude de l'efficacité de l'utilisation de l'eau et des paramètres de l'état hydrique

1. Evaluation des paramètres de l'état hydrique (stade de 4ème feuille)

1.1.1. La teneur relative en eau (TRE)

L'état hydrique des plantes peut être mesuré simplement et donné surtout par le contenu relatif en eau des tissus. La variation de la teneur relative en eau (TRE) en fonction du niveau de stress est indiquée dans la Figure 9.

Les résultats obtenus révèlent que les valeurs de la TRE diminuent au fur et à mesure que le déficit hydrique s'accroît. Sous le régime hydrique 60% CC les variétés BEL, Dk et RAH ont présenté les valeurs les plus basses de la TRE avec 72.72%, 74.45%, 75.21% respectivement. Pareil pour le régime 20% CC ce sont les mêmes variétés qui ont marqué les valeurs les plus basses de la TRE avec (BEL : 47.12%, RAH : 56.06% et Dk 56.6%) avec un taux de diminution de 35.20% pour la variété BEL, 23.97% pour la variété Dk et 25.45% pour la variété RAH.

L'analyse de la variance révèle des différences très hautement significative ($p < 0,001$) entre les génotypes, entre les traitements et entre l'interaction (génotype X traitement) (Tableau 6).

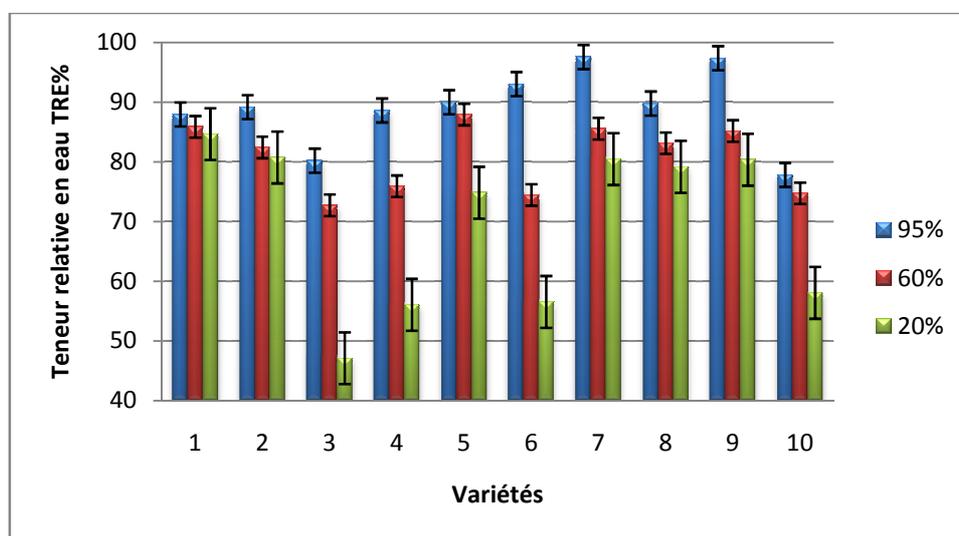


Figure 9. Variation de la teneur relative en eau des dix génotypes de blé dur soumis différents régimes hydriques **1.** Waha, **2.** Cirta, **3.** Beliouni, **4.** Rahouia, **5.** Mohamed ben Bachir, **6.** Djneh Khotifa, **7.** Bouslem, **8.** Simeo, **9.** Gemgoum R'khem, **10.** Bidi17. Les valeurs représentent les moyennes \pm SE

Chapitre 3. Marqueurs morpho-physiologiques de l'efficacité de l'utilisation de l'eau chez le blé dur en conditions de stress hydrique

Tableau 6. Carrées moyens de l'analyse de la variance des paramètres associés à l'état hydrique de la plante (la teneur relative en eau TRE), Taux de déperdition (TDE), potentiel osmotique (PO) et la conductivité électrolytique (EL).

	Paramètres			
	TRE	TDE	PO	EL
Génotypes (G)	552,125***	50,329***	0,5492***	36,896***
Traitement (T)	2822,744**	680,553***	1,188***	484,190***
Génotypes*Traitement (GXT)	115,741***	71,382***	0,068***	35,875***

ns : effet non significatif, * : effet significatif $p < 0,05$, ** : effet hautement significatif $p < 0,01$, *** : effet très hautement significatif $p < 0,001$.

1.1.2. Le Taux de déperdition de l'eau (TDE)

La variation du taux de déperdition de l'eau en fonction du niveau du stress imposé est indiquée dans la figure 10. Les résultats obtenus montrent que le taux de déperdition de l'eau (TDE) diminue avec l'intensité du stress imposé.

Pour le traitement 60% CC les variétés étudiées ont présenté une diminution légère du TDE par rapport aux plantes soumises à des conditions optimales de bonne alimentation hydrique, contrairement au traitement 20% CC où on assiste à une chute considérable du TDE pour l'ensemble des variétés sauf les variétés GGR, Bous et Sim qui ont présenté une diminution légère du TDE sous ce régime hydrique (Figure 10).

Les valeurs minimales du TDE sont enregistrées chez les variétés Bidi, Cir et RAH sous le régime 20% CC avec -25.9 , -29.39 et $-21.27 \text{ g} \cdot 10^{-3} / \text{cm}^2 / \text{mn}$ respectivement suivies par la variété MBB $-16.78 \text{ g} \cdot 10^{-3} / \text{cm}^2 / \text{mn}$ et Bel $-15.06 \text{ g} \cdot 10^{-3} / \text{cm}^2 / \text{mn}$. Ces variétés ont présenté également les taux de réduction les plus élevés avec 394.78% chez la variété Cir, 177.7% chez la variété RAH et 146.25% chez la variété Bidi.

L'analyse de la variance pour ce paramètre révèle des différences très hautement significative ($p < 0,001$) entre les génotypes, entre les traitements et entre l'interaction (génotype X traitement) (Tableau 6).

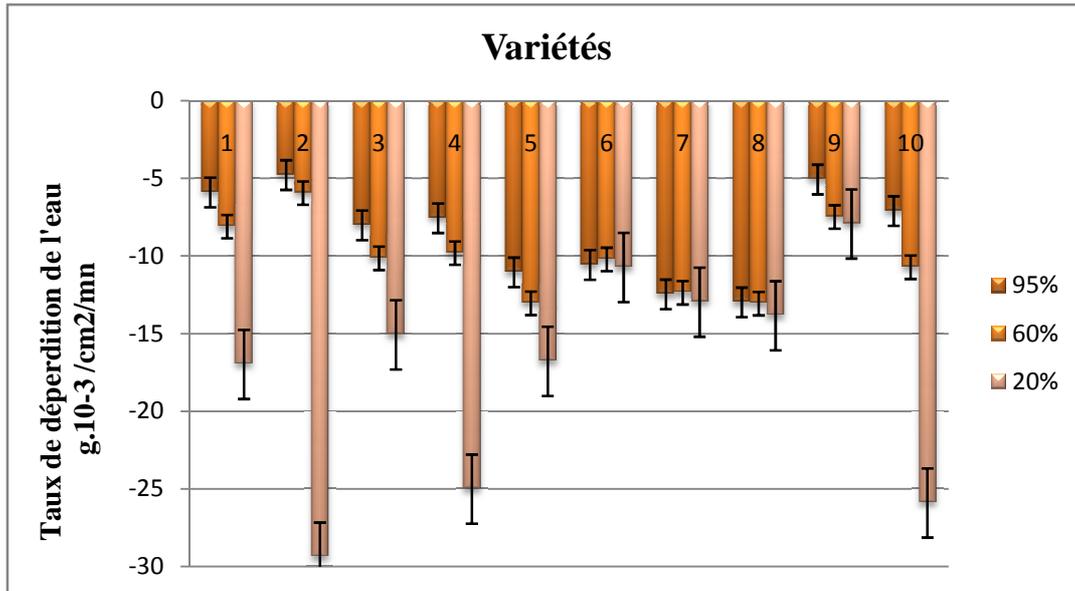


Figure 10. Variation du taux de déperdition de l' eau des dix génotypes de blé dur soumis différents régimes hydriques **1.** Waha, **2.** Cirta, **3.** Beliouni, **4.** Rahouia, **5.** Mohamed ben Bachir, **6.** Djneh Khotifa, **7.** Bouslem, **8.** Simeo, **9.** Gemgoum R'khem, **10.** Bidi17. Les valeurs représentent les moyennes \pm SE

1.1.3. Le potentiel osmotique (PO)

Une différence variétale très hautement significative a été notée pour ce paramètre ($P < 0.0001$) (Tableau 6). La variation du potentiel osmotique en fonction du niveau de stress imposé est indiquée dans la figure 11.

L'application d'un régime hydrique de 60% CC (stress modéré) n'a pas affecté le potentiel osmotique des variétés étudiées. Par contre l'effet du traitement 20% CC (stress sévère) sur le comportement des variétés a été significatif. Pour ce dernier on assiste à une diminution considérable du PO, les variétés Cir, Bidi et RAH présentent les valeurs minimales (Figure 11). L'analyse de la variance (ANOVA) révèle des différences significatives entre les traitements et entre les génotypes ainsi que pour l'interaction (Génotypes X traitement).

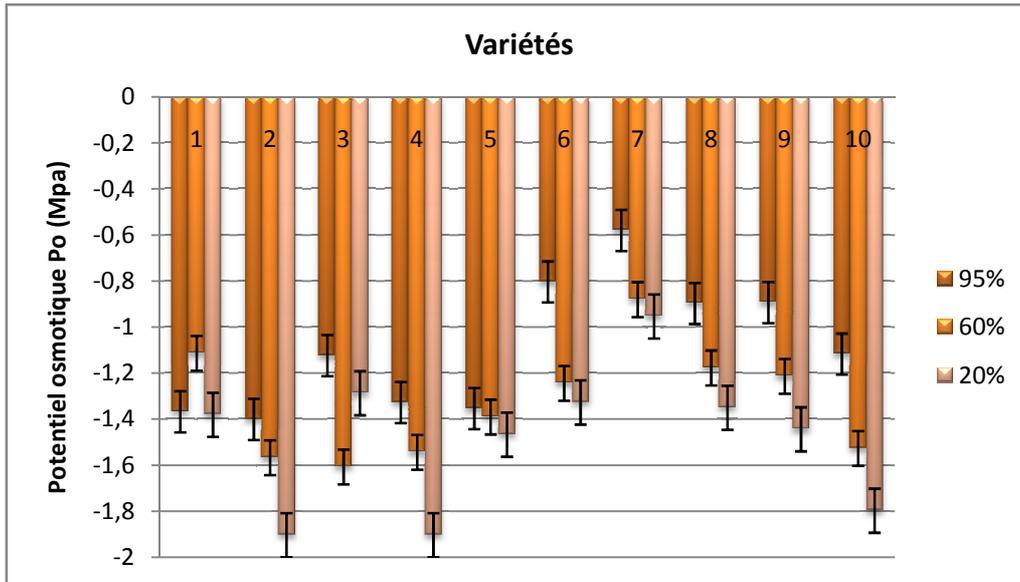


Figure 11. Variation potentiel osmotique des dix génotypes de blé dur soumis différents régimes hydriques 1. Waha, 2.Cirta,3.Beliouni,4.Rahouia,5.Mohamed benBachir. 6.Djneh Khotifa,7.Bouslem,8. Simeo ,9.Gemgoum R'khem, 10.Bidi17. Les valeurs représentent les moyennes \pm SE.

1.1.4. La conductivité électrolytique (EL)

La variation des taux d'électrolytes sous différents niveaux de stress hydrique apporte une information complémentaire sur le comportement des variétés vis-à-vis de la contrainte hydrique. On remarque que les plantes qui ont subi une bonne alimentation hydrique ont présenté des valeurs plus au moins faibles par rapports aux plantes exposées à des conditions de stress hydrique. Les valeurs varient entre 20.96% comme valeur minimale chez la variété GGR et 25.44% comme valeur maximale enregistrée chez la variété Cir.

Les résultats présentés dans la figure 12 indiquent une augmentation des valeurs de la conductivité électrolytique pour les deux traitements hydriques imposés.

Sous un stress modéré de 60%CC on note une augmentation légère des taux d'électrolytes, les valeurs maximales pour ce traitement ont été enregistrées chez les deux variétés Rah et Dk avec 28.31% et 28.95% respectivement.

Chapitre 3. Marqueurs morpho-physiologiques de l'efficacité de l'utilisation de l'eau chez le blé dur en conditions de stress hydrique

Sous un régime hydrique de 20% CC les variétés Bidi, Cir et RAH présentent aussi pour ce paramètre des taux élevés d'augmentation de la conductivité électrolytique avec 68.46% , 51.07% et 44.78% respectivement. La variété Sim a présenté le taux d'augmentation le plus bas avec 4.92% suivie par la variété Bous avec 12.74%.

Sous un stress hydrique les membranes cellulaires ont tendance à augmenter leur taux d'électrolytes qui se traduit par une stabilité membranaire faible. Ces mêmes observation ont été rapportées par (Hamla,2015 et Farissi et al.,2013).

L'analyse de la variance révèle une différence très hautement significative entre les variétés étudiées ainsi qu'entre traitements appliqués, de même pour l'interaction (Génotype X traitement) (Tableau 6).

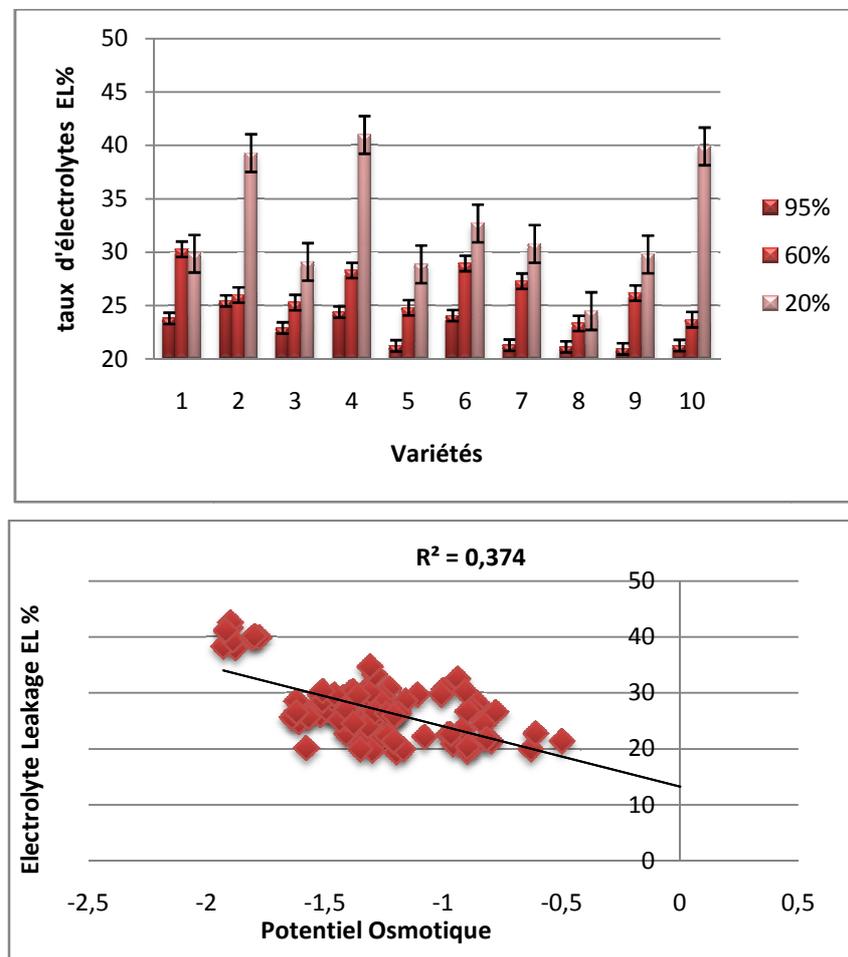


Figure 12. A) Variation des taux d'électrolytes de dix génotypes de blé dur soumis différents régimes hydriques 1. Waha, 2.Cirta,3.Beliouni,4.Rahouia,5.Mohamed benBachir. 6.Djnef Khotaifa,7.Bouslem,8. Simeo ,9.Gemgoum R'khem, 10.Bidi17. B) Relation entre le taux d'électrolytes (EL) et le potentiel osmotique chez les dix variétés étudiées. Les valeurs représentent les moyennes \pm SE.

Chapitre 3. Marqueurs morpho-physiologiques de l'efficacité de l'utilisation de l'eau chez le blé dur en conditions de stress hydrique

Discussion

Suite à un stress hydrique la plante met en place un certain nombre de réponses et développe des mécanismes qui vont conduire à des changements morphologiques, physiologiques, biochimiques et moléculaires. Ces réponses diffèrent d'une variété à une autre d'où l'importance d'étudier leurs comportements à travers différents paramètres et sous différents niveaux de stress.

L'état hydrique de la plante est un facteur très indicateur de sa croissance et de son développement, son utilisation efficace peut être un indice incontournable dans l'étude et la sélection des plantes. Le comportement hydrique des variétés de blé dur a été analysé à travers quelques paramètres liés à l'état hydrique en appliquant différents niveaux de stress.

Les résultats de la présente étude apportent des informations sur le comportement des variétés étudiées vis-à-vis des différents régimes hydriques imposés. L'effet des traitements hydriques sur les variétés considérées se traduit par une diminution de la teneur relative en eau, du taux de déperdition et du potentiel osmotique. Mais aussi une augmentation significative de la conductivité électrolytique.

La teneur en eau est considérée comme l'un des indexes de tolérance à la déshydratation le plus utilisé et le plus significatif (Hamla.,2015 et Melloul et al., 2014).L'étude de la teneur relative en eau est une mesure du changement relatif dans le volume cellulaire, en effet, le manque d'eau cause une chute du contenu relatif en eau (Albouchi et al., 2000). La teneur en eau des feuilles de blé dur diminue proportionnellement avec la réduction d'eau contenue dans le sol (Bajji et al., 2001).

Conformément à nos résultats, d'innombrables études sur le blé ont montré que la diminution de la disponibilité en eau n'est apparente qu'en cas de stress sévère (Ykhlef et al.,1998 ; Hireche, 2006 ; Mouelef,2010 ;bousba,2012 ; Hamla,2015). Nayyar et Gupta (2006) rapporte que quand les feuilles sont soumises à un stress hydrique, les feuilles montrent une grande diminution de la TRE, de plus il a été montré dans des recherches précédentes faites par (El tayeb et al ., 2006) et (Geravandia et al., 2011) que les génotypes tolérants montrent une TRE élevés contrairement aux génotypes sensibles.

En plus de la diminution de la teneur relative en eau dans les feuilles, les régimes hydriques imposées ont entraîné également une diminution des taux de déperdition de l'eau. Des chercheurs ont relié le taux de déperdition de l'eau au stress, les plantes stressées perdent plus

Chapitre 3. Marqueurs morpho-physiologiques de l'efficacité de l'utilisation de l'eau chez le blé dur en conditions de stress hydrique

d'eau que celles en conditions favorables. En effet, plus la surface assimilatrice est grande plus la perte est importante (Bousbaa,2012). Selon les techniques d'adaptation les plus utilisées par les plantes, l'enroulement des feuilles et cela pour minimaliser le taux de perte d'eau durant le stress (Zeghida et al., 2004). Nos résultats sont en accordance avec les travaux de (Mouelef,2010 et Bousbaa,2012).

De nombreuses plantes réagissent au stress hydrique par une diminution du potentiel osmotique provoqué par l'accumulation de soluté. Ce processus est appelé ajustement osmotique (William et Hopkins, 2003). Dans la présente étude, la contrainte hydrique a causé une diminution du potentiel osmotique, cette diminution a été avancé par plusieurs auteurs (Zhu et al, 2011; Ashraf et al., 2007 et Bousba,2012) qui montrent que la diminution du PO est l'une des réponses prononcées au stress hydrique dans beaucoup de plantes, et que ce phénomène est lié à la synthèse et à l'accumulation de certains solutés non toxiques dissous dans le cytoplasme à faible poids moléculaire (sucres solubles, proline, glycine, polyamide et des ions). Les solutés responsables de l'osmo-régulation sont essentiellement des acides organiques, des acides aminés et des sucres.

L'ajustement osmotique apparaît donc comme un mécanisme majeur d'adaptation à la sécheresse : il permet le maintien de nombreuses fonctions physiologiques (photosynthèse, transpiration, croissance...) ; il peut intervenir à tous les stades du développement et son caractère inductible suggère qu'il n'a pas (ou peu) d'incidence sur le rendement potentiel (semcheddine.,2015).

Les membranes cellulaires peuvent construire l'une des premières cibles affectées par le stress chez les plantes ; d'où la grande importance de la notion de la stabilité membranaire. Le degré de dommage membranaire peut être estimé indirectement en mesurant le taux d'électrolytes cellulaires solubles. La conductivité électrolyte des tissues endommagés est couramment utilisée pour évaluer la stabilité membranaire. Bajji et al (2002) ont révélé que la conductivité électrolytes est bien corrélée avec le niveau de résistance à la sécheresse chez le blé dur et que les cultivars sensibles sont caractérisés par des taux d'électrolytes élevés.

Nos résultats ont révélé une corrélation négative entre le taux d'électrolytes et le potentiel osmotique ce qui a été précédemment démontré par (Bajji el al., 2001) que les mesures de la conductivité d'électrolytes pouvait être corrélée avec divers paramètres physiologiques et biochimiques de la réponse des plantes au stress tels que : la synthèse d'enzymes antioxydantes, la résistance stomatique et le potentiel osmotique l'index d'enroulement

Chapitre 3. Marqueurs morpho-physiologiques de l'efficacité de l'utilisation de l'eau chez le blé dur en conditions de stress hydrique

foliaire et la teneur relative en eau (Hamla,2015). Ce qui fait de ce paramètre un important critère dans la sélection des cultivars sensibles/ résistants chez diverses espèces cultivables.

Les effets significatifs du stress hydrique sur l'augmentation du taux d'électrolytes cellulaire ont été rapportés par plusieurs auteurs et chez plusieurs espèces, chez médicago (Farissi el al , 2013) , le Riz(Agarie el al 1995) , l'orge (Kocheva el al 2012) ainsi que chez le blé et l'Aegilops (Farooq et Azam, 2001) .Nos résultats confirment les observations de (Farissi, 2013) ; (Hamla, 2015) et (Blokhina et al., 2003) qui suggèrent que sous un stress hydrique, les membrane cellulaires sont soumises à des changements tels que l'augmentation de la perméabilité et la diminution de la sélectivité qui peut être vue a travers l'augmentation dans la fuite des électrolytes.les taux élevés de conductivité électrolytes observés en conditions de stress hydrique sont principalement du a des dommages affectant les membranes cellulaires qui deviennent plus perméables (Almeslmani el al 2011) .Ces dommages peuvent profondément altérer la structure ainsi que la fonction des membranes (Sayar et al 2008 ; Rana el al 2013).

2. Etude de l'efficience de l'utilisation de l'eau et de quelques paramètres morpho-physiologiques (stade feuille étendard)

2. 1.l'efficacité de l'utilisation de l'eau et ses composantes

2.1. 1.Eau utilisée (EU)

Les résultats obtenus mettent en évidence une importante variation des quantités d'eau consommées sous les conditions stressantes imposées, les taux de réduction sont consignés dans le tableau 7. Les résultats montrent que le régime hydrique imposé influence fortement l'eau consommée (Figure 13).

En conditions déficitaire en eau, on remarque une baisse considérable de la quantité d'eau utilisée (EU) chez toutes les variétés et pour les deux régimes imposés. Cette baisse qui s'accroît avec l'intensité du régime stressant appliqué. Le taux de réduction le plus élevé a été enregistré chez la variété Cirta avec 92.75%, les cultivars GGR, Bous et Sim ont affichés les taux de réduction les plus bas avec 63.49%, 70.33% et 71.45% respectivement.

Chapitre 3. Marqueurs morpho-physiologiques de l'efficacité de l'utilisation de l'eau chez le blé dur en conditions de stress hydrique

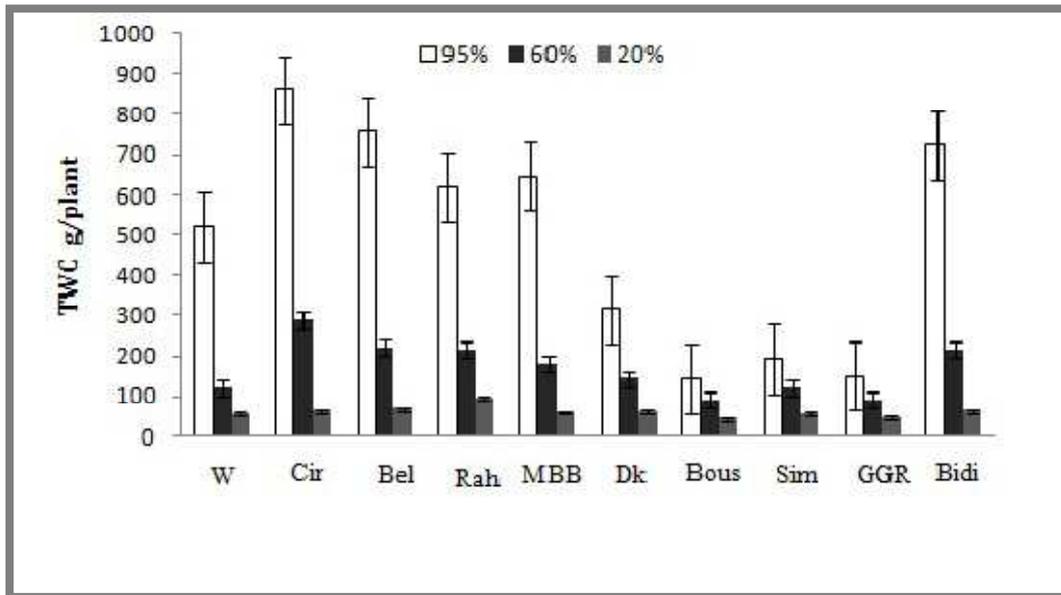


Figure 13. Variation des quantités d'eau utilisées (Total water consumption) dix génotypes de blé dur soumis différents régimes hydriques. Les valeurs représentent les moyennes \pm SE

L'effet traitement est significatif, on distingue trois niveaux de consommation en eau : 492,433 g/plante pour le traitement témoin 95% CC, 168,500 g/plante pour le traitement 60%CC et 60,433 g/plante pour le traitement 20% CC. Nos résultats montrent que l'intensité du stress hydrique imposé affecte d'une manière significative les variétés étudiées, l'analyse de la variance révèle des différences hautement significatives entre traitements, variétés mais aussi l'interaction (Traitement X Variété) (Tableau 8).

Tableau 7. Moyennes des variables de l'efficacité de l'utilisation de l'eau(EUE), eau utilisée (EU) et matière sèche totale (MST) et leurs groupes homogènes.

N_{1, 2, 3} = niveaux du stress hydrique (95%, 60%, 20% de CC); (A, B, C) indice de séparation des groupes homogènes par le test de **NEWMAN-KEULS** au seuil $\alpha=5\%$.

	Témoins	N ₁	N ₂	% d'augmentation/ diminution Par rapport aux témoins
EUE (mg.MST/g.Eau)				
W	1.20 ± 0,15	4.79 ± 0,20	5.88 ± 1,02	390%
Cir	0.66 ± 0.03	1.66 ± 0.46	3.05 ± 0.13	362.12%
BEL	0.86 ± 0.02	1.92 ± 0.55	4.45 ± 0,16	417.44%
RAH	0.89 ± 0.03	1.90 ± 0,13	3.08± 0.46	219%
MBB	1.14 ± 0.15	3.64± 1.20	7.17 ± 1,15	603%
Dk	2.05 ± 0.37	4.00 ± 0.78	5.92 ± 1,58	188.78%
Bous	5.54 ± 0,5	7.01 ± 0,17	14.66 ± 2.14	164.62%
Sim	4.06± 0.32	5.94 ± 1.19	10.19 ± 0.05	160%
GGR	4.66 ± 0,18	7.63 ± 1.25	11.48 ± 1.25	146.35%
Bidi	0.76± 0.10	2.17 ± 1.05	3.10 ± 0.16	307.9%
moyennes	2,18^C	4,06^B	6,89^A	
EU (g)				
W	520 ± 35	120 ± 5	55 ± 10	89.42%
Cir	860 ± 40	287.33 ± 50.46	62.33 ± 2.52	92.75%
BEL	755 ± 42.72	220 ± 65	68.33 ± 5.77	90.94%
RAH	620 ± 57	215.33± 45	95± 22.91	84.67%
MBB	645.33 ± 56.44	180.67± 39	59 ± 13.53	90.85%
Dk	315.67 ± 18.88	142 ± 8.19	60 ± 13.23	80.99%
Bous	142.67 ± 8.74	91.67 ± 7.64	42.33 ± 2.52	70.33%
Sim	192.67± 15.53	120 ± 25	55 ± 8.66	71.45%
GGR	150.67 ± 4.04	91.67 ± 17.56	45 ± 8.66	63.49%
Bidi	722.33± 36.56	216.33 ± 95.55	62.33 ± 2.52	91.37%
moyennes	492,433^A	168,500^B	60,433^C	
MST(mg)				
W	621 ± 33.51	574.67 ± 25.54	316.67 ± 3.51	49%
Cir	572.67 ± 7.02	461.33± 39.50	190.33 ± 11.06	66.76%
BEL	655.67 ± 47.17	400.33 ± 12.50	303.67± 17.79	53.68%
RAH	555.67 ± 63.14	411± 99.80	312.33± 19.86	43.72%
MBB	730.67 ± 38.28	628.67± 69.12	414 ± 32.60	43.79%
Dk	642.33 ± 77.01	564 ± 78.54	339.33 ± 26.86	47.17%
Bous	787.67 ± 24.58	643.67 ± 64.52	619.67 ± 76.29	21.32%
Sim	782.33± 66.27	690 ± 14	560.33 ± 88.08	28.37%
GGR	701.67 ± 9.07	685 ± 18.68	508.33 ± 72.23	27.55%
Bidi	543± 49.27	406.33 ± 7.51	193.33 ± 13.05	64.39%
moyennes	659,267^A	546,500^B	375,800^C	

Chapitre 3. Marqueurs morpho-physiologiques de l'efficacité de l'utilisation de l'eau chez le blé dur en conditions de stress hydrique

Tableau 8. Carrées moyennes de l'analyse de la variance de l'efficacité de l'utilisation de l'eau (EUE) et ses composantes : matière sèche totale (MST) et eau utilisée (EU).

	Paramètres		
	MST	EU	EU
Variétés (V)	113998,989***	62,632***	116019,2***
Traitements (T)	611040,811***	169,023***	1516176***
Interaction(T)*(V)	8005,774 ^{Ns}	5,179***	58335,044***

Ns : effet non significatif, * : effet significatif $p < 0,05$, ** : effet hautement significatif $p < 0,01$, *** : effet très hautement significatif $p < 0,001$.

2.1.2. Matière sèche totale (MST)

La variation de la matière sèche totale accumulée en fonction du régime hydrique imposé est indiquée dans la figure 14.

En conditions optimales, les variétés étudiées ont maintenu des valeurs élevées de la matière sèche accumulée entre 787 et 555mg/plante. Suite à l'application de différents niveaux de stress hydrique la matière sèche a diminué. Les résultats illustrés dans la figure 14 indiquent une légère diminution de la MST pour toutes les variétés sous les deux traitements secs imposés, les taux de réduction sont consignés dans le Tableau 7. La variété Cir a présenté le taux de réduction le plus bas de la MST avec 66.76% suivie par la variété Bidi 64.39%.

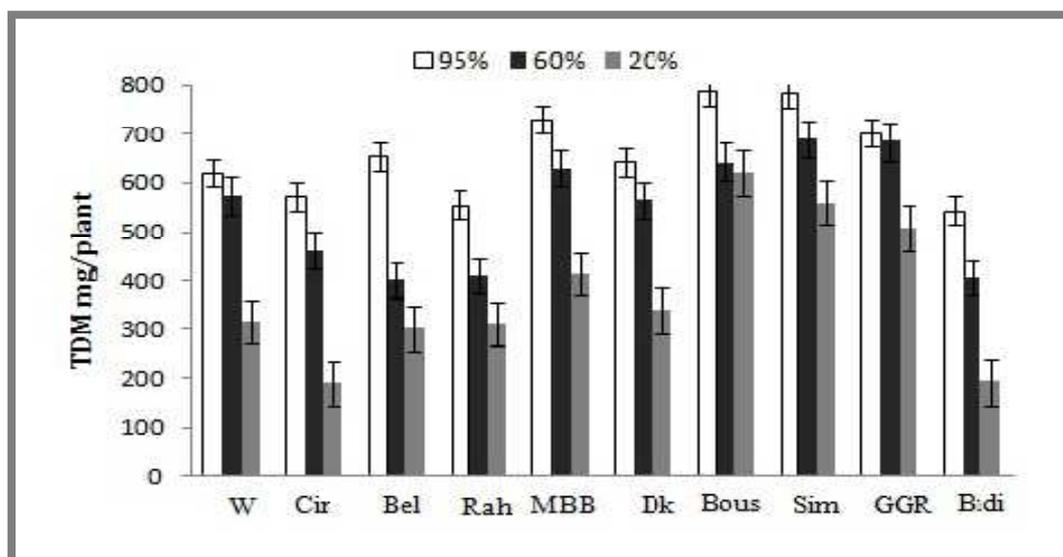


Figure 14. Matière sèche totale (Total dry Matter) de dix génotypes de blé dur soumis à différents régimes hydriques 95%,60% et 20%CC. Les valeurs représentent les moyennes \pm SE.

Chapitre 3. Marqueurs morpho-physiologiques de l'efficacité de l'utilisation de l'eau chez le blé dur en conditions de stress hydrique

En dépit de la sévérité du stress hydrique imposé, certains cultivars ont maintenu des valeurs élevées de la MST telle que la variété Bous sous le régime 20% CC avec 619.67mg/plante. Les mêmes observations ont été notées chez la variété Sim sous le régime 60%CC avec 690mg/plante. Une différence hautement significative entre les variétés et les traitements a été observée suite à une analyse de la variance (Tableau.8).

2.1.3. Efficacité de l'utilisation de l'eau (EUE)

Nous avons évalué l'efficacité de l'utilisation de l'eau chez des plantes de blé dur ayant subi différents régimes hydriques (95%,60%,20%) de la capacité au champ. L'efficacité de l'utilisation de l'eau (EUE) estimée par le rapport (MST/EU) varie selon les génotypes et évolue de façon similaire en fonction des régimes hydriques appliqués (Figure 15). Les taux d'augmentation de l'EUE sont consignés dans le tableau 7.

On note que la variété Bous a enregistré la valeur maximale de l' EUE pour le traitement hydrique 20%CC avec 14.66 mg/g.eau suivie par la variété GGR avec 11.48mg/g.eau tandis que les valeurs minimales de l' EUE ont été enregistrées chez les variétés Cir, Rah and Bidi (3.05 3.08 and 3.09 mg/g.eau) respectivement. L'effet traitement est significatif on distingue trois niveau d'efficacité d'utilisation de l'eau : 2,18mg/g. unité d'eau pour le traitement control (95%CC), 4,06 mg/g. unité d'eau pour le stress modéré (60%CC) et 6,89 mg/g. unité d'eau pour le stress sévère(20%CC).

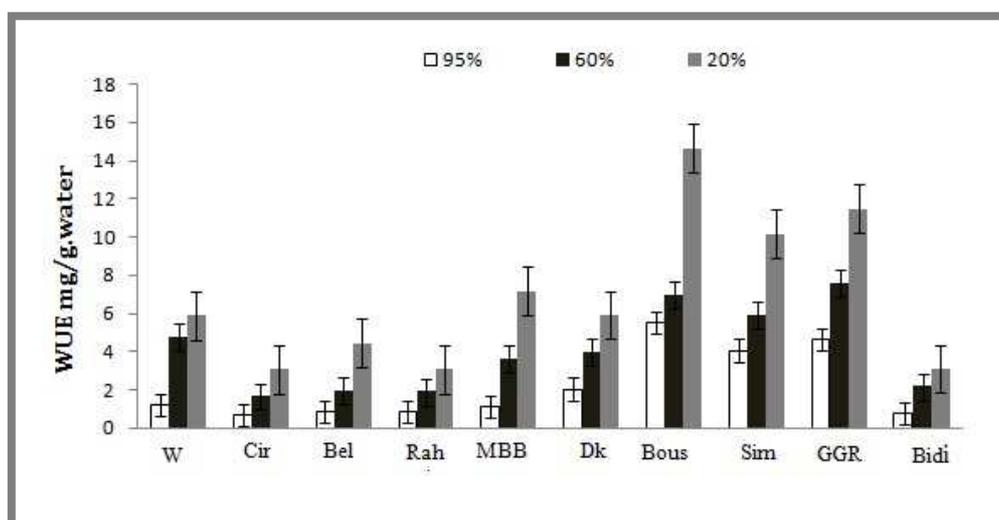


Figure 15. Efficacité de l'utilisation de l'eau (Water Use Efficiency) de dix génotypes de blé dur soumis à différents régimes hydriques. Les valeurs représentent les moyennes \pm SE

Chapitre 3. Marqueurs morpho-physiologiques de l'efficacité de l'utilisation de l'eau chez le blé dur en conditions de stress hydrique

L'analyse de la variance révèle des différences significatives entre les variétés étudiées et les traitements imposés (Tableau 8). De plus, des différences significatives apparaissent également concernant l'interaction (Variété X traitement), ce qui implique que les variétés étudiées répondent différemment au stress hydrique pour ce paramètre et que leur réponse varie en fonction de l'intensité du stress imposé.

2.2. Analyse des paramètres physiologiques

🚦 La teneur relative en eau (TRE)

Les résultats obtenus montrent que en conditions de stress hydrique la teneur relative en eau TRE diminue quelque soit le stade de développement étudié. On constate une légère diminution de la TRE sous le régime 60%CC (stress modéré). Par contre, sous un régime hydrique de 20% CC considéré comme un stress sévère on remarque une forte réduction de la TRE. Les variétés Cir et Bidi ont enregistré les valeurs les plus basses (Figure 16). En outre, la valeur la plus élevée de la TRE a été obtenue chez la variété Bous sous le même régime hydrique (Figure 16).

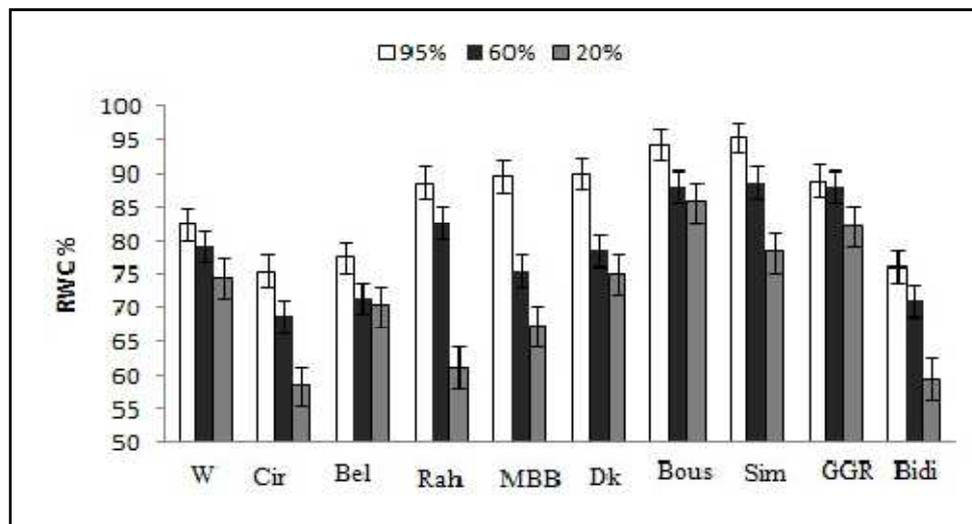


Figure 16. Variation de la teneur relative en eau (Relative Water Content RWC) de dix génotypes de blé dur soumis à différents régimes hydriques. Les valeurs représentent les moyennes +SE, n=3.

Par ailleurs, nos résultats indiquent que les génotypes étudiés n'étaient pas très affectés par le stress modéré 60% CC. De plus, l'analyse de la variance révèle des différences très significatives ($P \leq 0.0001$) entre les génotypes, les traitements ainsi qu'entre l'interaction (G*T)(Tableau 9).

Chapitre 3. Marqueurs morpho-physiologiques de l'efficacité de l'utilisation de l'eau chez le blé dur en conditions de stress hydrique

Tableau 9. Carrées moyens de l'analyse de la variance des paramètres physiologiques : Teneur relative en eau (TRE), Taux de chlorophylle totale (SPAD Index), Conductance stomatique (gs), Température foliaire (T°).

	TRE		g(s)		TF	
Génotypes (G)	505,454	***	0,052	***	70,164	***
Traitement (T)	1595,472	***	0,398	***	243,709	***
Interaction (GxT)	48,753	**	0,008	***	2,126	Ns
	SPAD					
	Index					
Génotypes (G)	79,441	***				
Traitement (T)	253,654	***				
Interaction (GxT)	4,021	*				

Ns : effet non significatif, * : effet significatif $p < 0,05$, ** : effet hautement significatif $p < 0,01$, *** : effet très hautement significatif $p < 0,001$.

🚩 La teneur en chlorophylle totale (SPAD Index)

La variation des valeurs du contenu en chlorophylle totale en fonction des régimes hydrique appliqués est indiquée dans la (Figure 17). Les résultats obtenus révèlent un effet significatif des niveaux de stress imposés sur la teneur en chlorophylle totale (SPAD Index) chez toutes les variétés. On remarque une baisse des valeurs de SPAD Index sous les deux régimes 60% CC et 20%CC contrairement au traitement contrôle (95%CC) qui exhibent un taux de chlorophylle élevé.

Les moyennes de l'Index SPAD enregistrées sont 32.68 ; 27.47 et 23.76 unité de SPAD pour les témoins, 60%CC et 20%CC respectivement.

La réduction des valeurs de la teneur en chlorophylle diffère d'une manière significative entre les variétés étudiées. En effet, la comparaison des moyennes ainsi que l'analyse de la variance ANOVA a révélé aussi pour ce paramètre qu'il existe une différence significative entre génotypes, traitements, de même pour et l'interaction (G X T) (Tableau 9).

Chapitre 3. Marqueurs morpho-physiologiques de l'efficacité de l'utilisation de l'eau chez le blé dur en conditions de stress hydrique

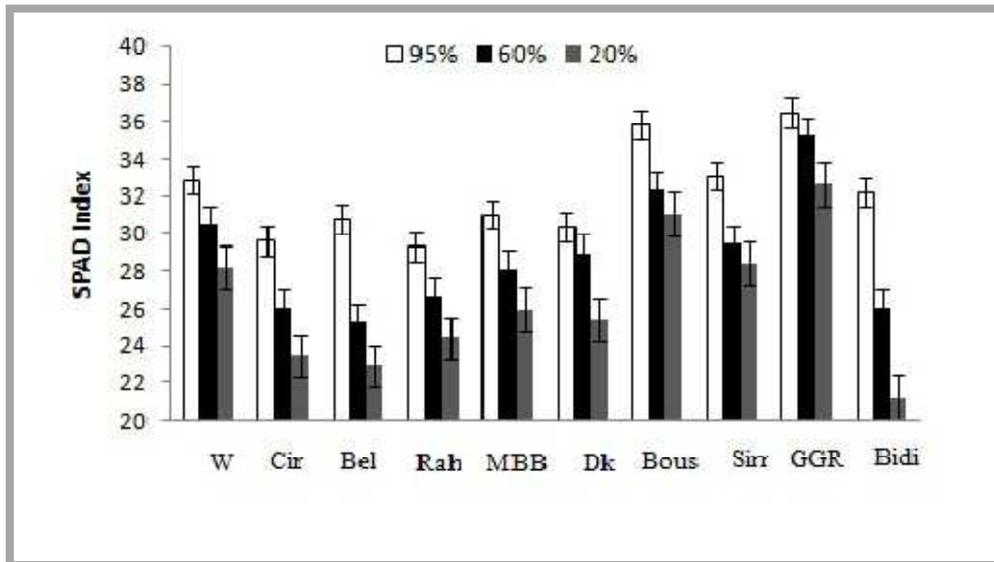


Figure 17. Variation du taux de chlorophylle de dix génotypes de blé dur soumis à différents régimes hydriques. Les valeurs représentent les moyennes \pm SE

🚦 La conductance stomatique g(s)

Le déficit hydrique affecte la conductance stomatique, les plantes ayant subi une irrigation optimale à 95% CC ont présenté des valeurs élevées par rapport aux plantes soumises à des conditions déficitaires en eau.

Les résultats indiqués dans la figure 18 montrent que la conductance stomatique (gs) a été fortement affectée par les niveaux de stress imposés. Nos résultats montrent que les cultivars Dk et Bidi ont présenté les valeurs minimales de la conductance stomatique (gs) sous le traitement hydrique 20% CC avec 0.06 et $0.07 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ respectivement. Les mêmes observations ont été notées pour le traitement 60% CC, les variétés Dk, Bidi et Cirta ont affiché les valeurs minimales de la (gs) (Figure 18).

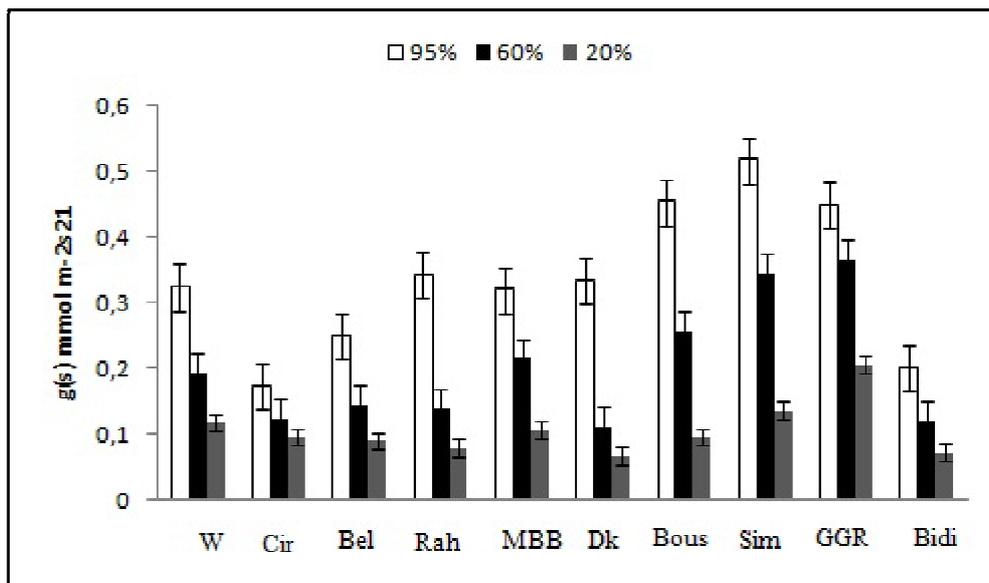


Figure 18. Variation de la conductance stomatique de dix génotypes de blé dur soumis à différents régimes hydriques 95%,60% et 20% CC. Les valeurs représentent les moyennes \pm SE.

L'analyse de la variance révèle des différences significatives entre les variétés, l'augmentation accusée pour les valeurs observées n'est pas la même pour toutes les variétés (Tableau 9). Des différences significatives apparaissent également concernant l'interaction (Génotype * traitement), ce qui implique que les variétés étudiées répondent différemment au stress hydrique pour ce paramètre et que leur réponse varie en fonction de l'intensité du stress imposé.

✚ La température foliaire (TF)

La variation des valeurs de la température foliaire en fonction du traitement hydrique appliqué est indiquée dans la figure 19. Nos résultats montrent que la température foliaire a été positivement influencée par la sévérité du régime hydrique imposé, une augmentation des valeurs de la température foliaire a été observée chez toutes les variétés pour les deux traitements hydriques imposés.

Sous conditions optimales les valeurs de la température foliaire varient entre 23.93 C° et 30.66C°. En appliquant un régime hydrique de 60% CC on remarque que les valeurs de la température foliaire augmentent légèrement et s'étalent entre 32.46C° et 26.03C°. L'augmentation devient plus importante avec l'intensité du stress imposé, sous un régime de 20% CC les valeurs de la température foliaire s'étalent entre 37.53 C° et 36.56C°.

Chapitre 3. Marqueurs morpho-physiologiques de l'efficacité de l'utilisation de l'eau chez le blé dur en conditions de stress hydrique

Outre, l'effet du stress hydrique diffère selon les variétés et selon l'intensité du régime hydrique imposé. Une différence hautement significative entre génotypes, variétés a été observée selon une analyse de la variance (Tableau 9).

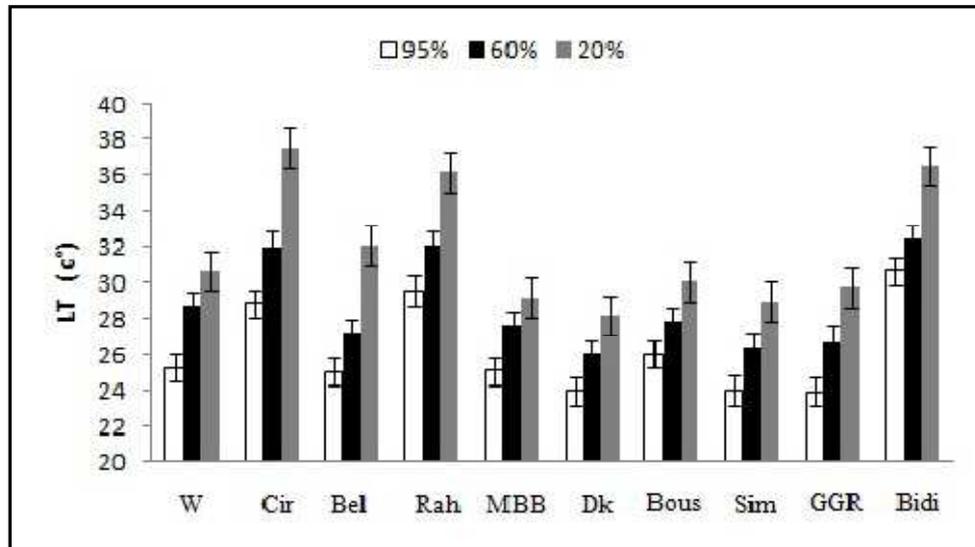


Figure 19. Variation de la température foliaire (Leaf Temperature) de dix génotypes de blé dur soumis à différents régimes hydriques. Les valeurs représentent les moyennes \pm SE

2.3. Analyse des paramètres morphologiques

🚩 La surface foliaire (SF)

En plus des paramètres physiologiques, les conditions déficitaires en eau ont affecté les caractères morphologiques des plantes telle que la surface foliaire (SF) qui a été également induite par les régimes hydriques imposés. Nos résultats révèlent une diminution de la SF suite à l'application des traitements stressants. La variation de la surface foliaire en fonction des régimes hydriques est indiquée dans la figure 20.

Sous un régime hydrique de 95% CC ou les plantes se développent sous une bonne alimentation hydrique les surfaces foliaires s'étalent entre 20.17 et 14.17 Cm^2 . On note aussi que le régime 60%CC (stress modéré) n'a pas affecté la surface foliaires des génotypes étudiés, les valeurs de SF sous ce régime sont plus au moins proches de celles des plantes témoins entre 18.25 et 10.07 Cm^2 .

Sous un stress sévère de 20% CC, les valeurs de la surface foliaire diminuent chez toutes les variétés sauf chez la variété Bous qui a présenté la valeur la plus élevée de la SF avec

Chapitre 3. Marqueurs morpho-physiologiques de l'efficacité de l'utilisation de l'eau chez le blé dur en conditions de stress hydrique

18.01cm². D'un autre coté, les valeurs minimales de la surface foliaire sous ce même traitement hydrique sont présentées par les variétés Cir avec 8.93 cm² suivie par la variété Bidi avec 8.97 cm².

L'analyse de la variance révèle des différences significatives entre variétés dans la mesure où la diminution accusée pour les valeurs observée n'est pas la même pour toute les variétés (Tableau 10).

Des différences significatives apparaissent également concernant l'interaction (Variété* traitement), ce qui implique que les variétés étudiées répondent différemment au stress hydrique pour ce paramètre et que leur réponse varie en fonction de l'intensité du stress imposé.

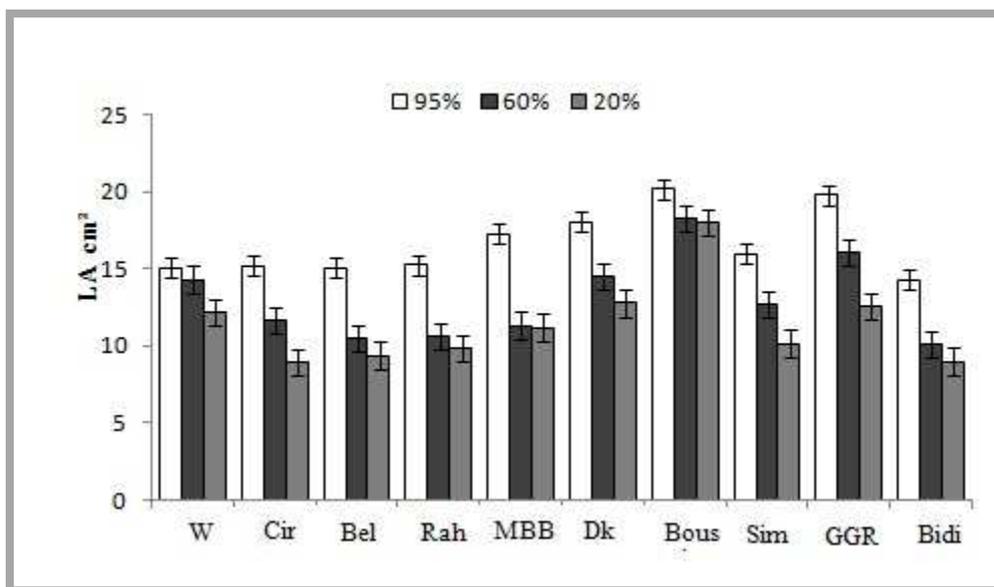


Figure 20. Variation de la Surface foliaire (Leaf Area) de dix génotypes de blé dur soumis à différents régimes hydriques. Les valeurs représentent les moyennes \pm SE

Chapitre 3. Marqueurs morpho-physiologiques de l'efficacité de l'utilisation de l'eau chez le blé dur en conditions de stress hydrique

🚩 Le poids spécifique foliaire (Psf)

La figure 21 indique la variation du poids spécifique foliaire en fonction des traitements hydriques imposés. L'analyse de la variance révèle que l'effet des traitements hydriques imposés sur le poids spécifique foliaire (Psf) varie d'une variété à une autre.

Les résultats obtenus révèlent des similitudes dans les valeurs du Psf sous le traitement control à 95% CC et le traitement 60% (stress modéré).

On remarque aussi que les variétés Bidi, Cir et RAH ont présenté une augmentation significative du (Psf) sou un régime de 20% CC avec 23.85mg/cm² ; 25.08 mg/cm² et 25.85 mg/cm² respectivement suivie pas la variété BEL avec 20.03 mg/cm² (Figure 21).

En outre, les cultivars W, MBB, Dk, Bous, GGR, et Sim ont présenté presque les mêmes valeurs du Psf pour les deux traitements stressants appliqués.

Une différence hautement significative a été observée également entre les traitements ainsi que pour l'interaction (Traitement X génotypes) (Tableau 10).

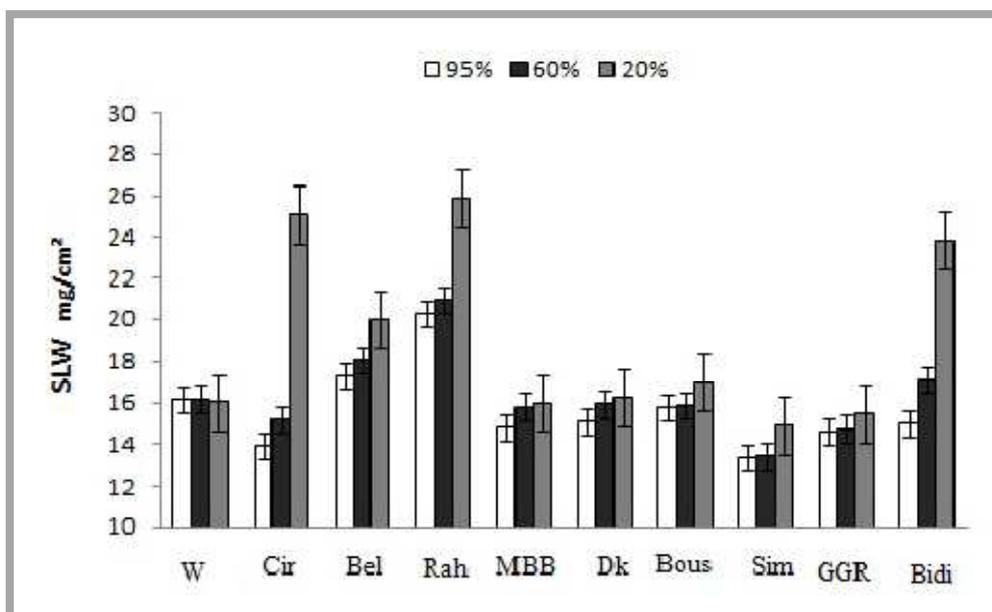


Figure 21. Variation du Poids spécifique foliaire (Specific leaf weight) de dix génotypes de blé dur soumis à différents régimes hydriques. Les valeurs représentent les moyennes \pm SE

Chapitre 3. Marqueurs morpho-physiologiques de l'efficacité de l'utilisation de l'eau chez le blé dur en conditions de stress hydrique

Tableau 10. Carrées moyens de l'analyse de la variance des paramètres morphologiques : la surface foliaire (SF) et le poids spécifique foliaire (Psf).

	Paramètres	
	SF	Psf
Géotypes (G)	52,236***	54,123***
Traitement (T)	213,434***	98,121***
Interaction (GXT)	2,828 ns	13,17***

* : effet significatif $p < 0,05$, ** : effet hautement significatif $p < 0,01$, *** : effet très hautement significatif $p < 0,001$.

3. Efficacité de l'utilisation de l'eau (EUE) et les paramètres associés

Une analyse des coefficients des corrélations (Pearson's correlations) a été effectuée à l'aide du logiciel SPSS 22.0 software package afin de mettre en évidence les paramètres morpho-physiologiques liés à l'efficacité de l'utilisation (EUE). La matrice de corrélations entre EUE et tout les variables chez les variétés étudiés est présentée dans (Annexe 06).

L'analyse a révélée les paramètres associés à l'EUE sous les deux traitements hydriques imposés, les valeurs affichés dans le tableau 11 montrent que l'efficacité de l'utilisation de l'eau (EUE) a été négativement corrélée avec l'eau consommée (EU) ($r = -0.88^{**}$ pour le régime 60% CC et $r = -0.69^{**}$ pour le régime 20%CC). Cette corrélation négative a été observée également avec : la conductance stomatique (gs) $r = -0.42^*$ pour le traitement 60% CC et $r = -0.68^{**}$ for 20% FC) ; la température foliaire TF ($r = -0.52^{**}$ pour le traitement 60%CC et $r = -0.53^{**}$ pour le traitement 20% CC).

Une corrélation positive importante a été enregistrée entre EUE et MST sous les deux traitements stressants imposés ($r = 0.63$ pour le régime 60% CC et $r = 0.90^{**}$ pour le régime 20% CC). De plus, sous un stress sévère de 20%CC on note des corrélations positives significatives entre EUE et SF d'une part et entre EUE et TRE d'autre part avec ($r = 0.72^{**}$, $r = 0.47^{**}$ respectivement).

Chapitre 3. Marqueurs morpho-physiologiques de l'efficacité de l'utilisation de l'eau chez le blé dur en conditions de stress hydrique

Tableau 11. Matrice de corrélation entre EUE et quelques variables sous deux régimes hydrique différents

Coefficients de corrélation pour le traitement 60% CC							
	EUE	EU	gs	MST	T°	SF	TRE
WUE	1	-,885 ^{**}	-,042 [*]	,636 ^{**}	-,526 ^{**}	0,338	0,046

Coefficients de corrélation pour le traitement 20% CC							
	EUE	EU	gs	MST	T°	SF	TRE
WUE	1	-,690	-,682	,901	-,532	,729 ^{**}	,479 ^{**}

** . La corrélation est Significative au niveau 0.01 (bilatéral).

* . La corrélation est Significative au niveau 0.05 (bilatéral).

- Les résultats illustrés dans la figure 22 (A et B) indiquent que MST, EU et SF sont des paramètres fortement liés à EUE en conditions de stress sévère 20% CC.

Chapitre 3. Marqueurs morpho-physiologiques de l'efficacité de l'utilisation de l'eau chez le blé dur en conditions de stress hydrique

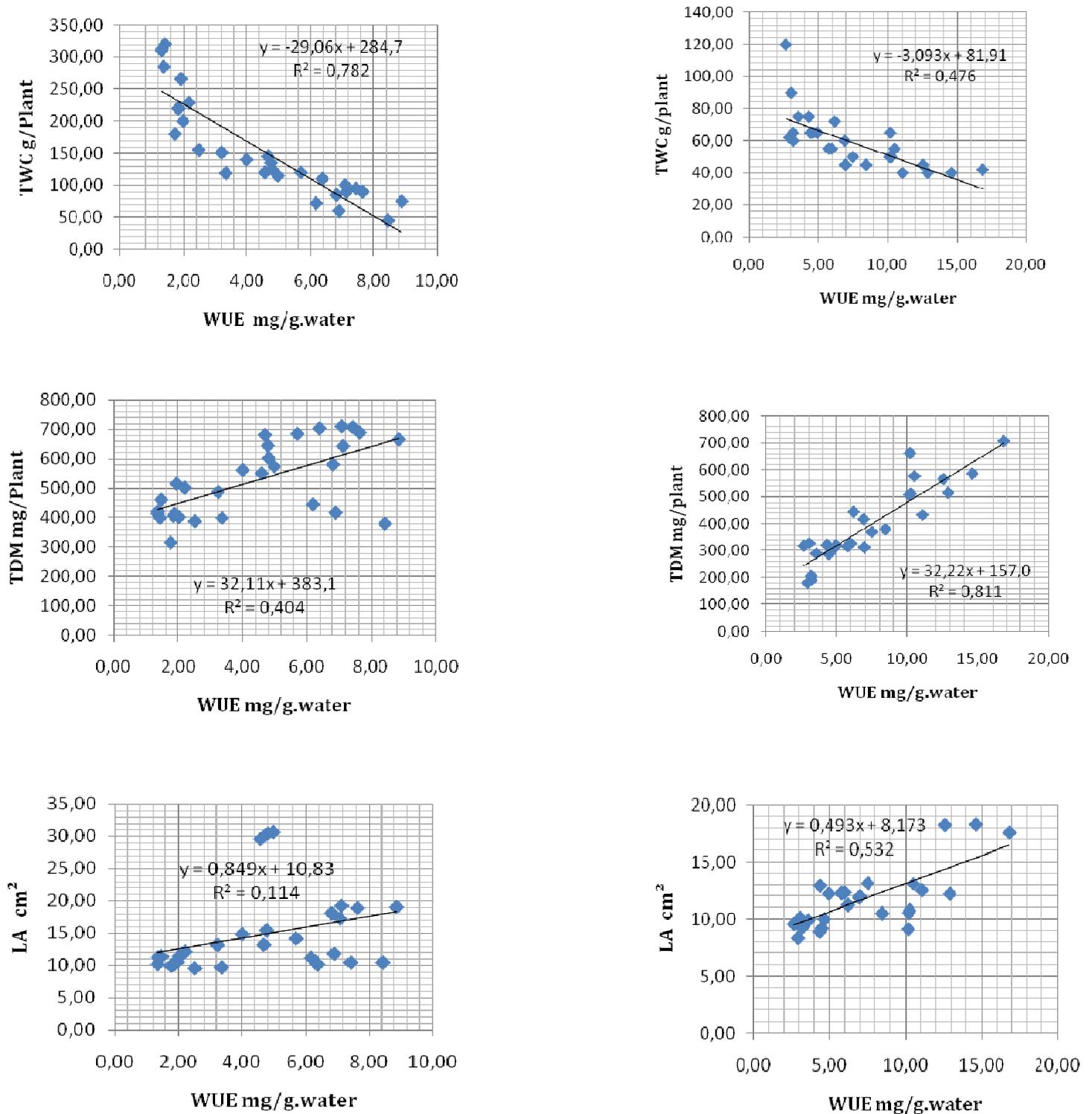


Figure 22 .Relation entre l'efficacité de l'utilisation de l'eau (WUE) et l'eau totale utilisée (TWC); la matière sèche totale (TDM) ; la surface foliaire (SF) : A) sous un régime de 60%CC ; B) sous un régime de 20%CC

Chapitre 3. Marqueurs morpho-physiologiques de l'efficacité de l'utilisation de l'eau chez le blé dur en conditions de stress hydrique

Discussion

L'amélioration de la compréhension des mécanismes de tolérance des plantes à leur environnement externe est d'une grande importance afin de développer des variétés tolérantes à la sécheresse. La tolérance à la sécheresse d'une plante cultivée est le résultat de l'expression de nombreux caractères d'adaptation dont l'efficacité d'utilisation de l'eau (Hafsi, 2001).

L'efficacité de l'utilisation de l'eau (EUE) devient une question clé dans les zones semi-arides où la production agricole repose sur l'utilisation de grands volumes d'eau. Elle est considérée comme une caractéristique importante associée à la tolérance à la sécheresse des plantes cultivées. L'EUE peut être mesurée à différentes échelles, allant de mesures instantanées sur la feuille à d'autres échelles plus intégratives au niveau de la plante et de la culture (Medrano et al 2015). A l'échelle de la plante et en ignorant l'évaporation du sol, EUE est défini comme le rapport de la biomasse produite et la quantité d'eau utilisée pendant une période définie.

Les résultats obtenus révèlent des différences dans le comportement des variétés étudiés vis-à-vis la contrainte hydrique qui a entraîné une différence de sensibilité entre les génotypes considérés. Cette différence est essentiellement liée au niveau de stress imposé (modéré ou sévère, pour la majorité des paramètres étudiés le stress modéré n'a pas beaucoup affecté les plantes en terme de réponses physiologiques et morphologiques.

L'effet d'un stress sévère se caractérise principalement par une diminution de la matière sèche totale ainsi que la quantité d'eau utilisé ce qui a aboutit à une augmentation de l'efficacité de l'utilisation de l'eau pour la majorité des variétés. De plus, une diminution de la conductance stomatique, de la teneur relative en eau, du taux de chlorophylle, de la surface foliaire et une augmentation de la température foliaire et du poids spécifique foliaire.

Dans la présente étude, l'efficacité de l'utilisation de l'eau varie selon les génotypes et évolue de façon similaire en fonction des régimes hydriques appliqués. Cette variabilité est maintenue lors de l'application du stress hydrique et augmente avec l'intensité de ce dernier.

Pour un déficit hydrique modéré, une bonne efficacité de l'utilisation de l'eau a été enregistrée pour l'ensemble des variétés étudiées. Outre, pour un stress hydrique sévère les

Chapitre 3. Marqueurs morpho-physiologiques de l'efficacité de l'utilisation de l'eau chez le blé dur en conditions de stress hydrique

variétés concernées montrent les meilleures valeurs de EUE. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par (Ykhlef et al., 1998 ; Bousba. et al., 2009).

La contrainte hydrique entraîne une réduction de la consommation d'eau avec une production de la matière sèche très élevée, cette réduction est d'autant plus importante que le stress est sévère. Cette réduction est due principalement au dessèchement au sol. De plus, Ykhlef et al (1998) rapportent que l'EEU augmente avec l'intensité du stress, ce dernier qui affecte d'une manière considérable la quantité d'eau utilisée EU en comparant avec l'assimilation de la matière sèche ce qui est en conformité avec nos résultats.

D'après Bouzerzour et al (1998) chez l'orge la production de la biomasse aérienne est un bon indicateur d'adaptation à la sécheresse et de l'efficacité de l'utilisation de l'eau.

L'efficacité de l'eau utilisée constitue donc un facteur principal de la tolérance au manque d'eau. En condition de contrainte hydrique, une variabilité génotypique de l'efficacité de l'eau utilisée est observée au sein des génotypes étudiés. Cette variabilité génotypique exprime le potentiel de production de la matière sèche en fonction de l'eau disponible. Elle dépend du niveau d'imbibition de la plante, lequel résulte de l'équilibre entre l'absorption et la transpiration (Bousbaa, 2012).

En effet la relation liant les valeurs de l'EUE et de la Matière sèche, montre que ces deux paramètres sont linéairement liés en conditions de stress, la corrélation est significative sous un stress sévère ($r = 0,901^{**}$) les mêmes résultats ont été obtenus par (Alirezan et Farshad, 2013).

Parmi les réponses les plus précoces et rapides au déficit hydrique qui se mettent en place en quelques minutes la fermeture des stomates (Khan et al., 2009). Cette fermeture sera donc suivie par une réduction de la conductance stomatique (Parwata et al., 2012). La variabilité génotypique observée dans la présente étude est une résultante de la capacité de certains cultivars à maintenir leurs stomates ouverts contrairement aux certains d'autres qui tendent à fermer leurs stomates rapidement en réponse aux conditions déficitaires imposées. On peut interpréter la fermeture stomatique rapide comme une meilleure adaptation à la sécheresse, permettant à la plante d'économiser l'eau disponible et maintenir une teneur relative en eau élevée au niveau cellulaire (Hamla, 2015) et ainsi maintenir le statut hydrique (Parawata et al., 2012). Et ce en diminuant la déperdition de l'eau par transpiration, avec comme conséquence une diminution de l'assimilation du CO₂. Cette stratégie peut avoir des effets sur la photosynthèse active nette (Cechin et al., 2006). Au contraire une fermeture stomatique

Chapitre 3. Marqueurs morpho-physiologiques de l'efficacité de l'utilisation de l'eau chez le blé dur en conditions de stress hydrique

plus lente peut traduire une certaine tolérance à la déshydratation qui peut être accompagnée d'un ajustement osmotique (Nouri., 2002).

La réduction la conductance stomatique suite à un stress hydrique a été rapportée par plusieurs auteurs (Djekoun, 1991 ; Nouri,2002 ;Baloch et al., 2012, Parwata et al., 2012) et spécialement sur le blé dans les travaux de (Ykhlef et Djekoun., 2000, Moualef, 2010, Bousba,2013 et Hamla et al .,2014).

Djekoun et ykhlef (2000) et Bousbaa (2013) suggèrent que le maintien d'une activité photosynthétique satisfaisante malgré la diminution de la concentration en CO₂ suite à la fermeture des stomates peut être dû à la mise en place de mécanisme d'adaptation non stomatique. Un comportement stomatique approprié peut être utilisé comme un critère d'amélioration. Des mesures efficaces de cette caractéristique peuvent augmenter la fiabilité d'évaluation de la performance des cultivars en conditions de sécheresse (Khan et al 2009 ; Hamla, 2015).

Selon l'analyse de corrélation, la quantité d'eau utilisée EU et la conductance stomatique g(s) sont négativement corrélée avec EUE en conditions de stress hydrique, nos résultats sont en accord avec les travaux de (Xiao-li1 et al., 2012) qui a montré que l'augmentation de EUE des feuilles est due principalement à une réduction de la transpiration et une augmentation de la photosynthèse. En outre, il a été rapporté dans de nombreuses études que la réduction de g (s) et de la transpiration ont été parallèlement accompagnées seulement par des réductions dans (C_i) concentration intercellulaire du CO₂ qui conduisait à accroître l'efficacité de l'utilisation de l'eau (Xiao-li1 et al., 2012).

L'état hydrique des feuilles peut définir et avec précision la demande et l'approvisionnement en eau chez les plantes. La teneur relative en eau est un déterminant important de l'activité métabolique et de la survie des feuilles (Öner el al., 2014) .Il peut être un paramètre discriminant des génotypes tolérants /sensibles à la sécheresse (Rauf, 2008). El Tayeb (2006) et Geravandia (2011) qui suggèrent que les génotypes tolérants montrent une teneur relative élevée par rapport aux sensibles.

Dans la présente étude, l'application de différents régimes hydriques à affecter d'une manière croissante la teneur relative en eau (TRE).Une diminution a été observé chez plantes soumises a des conditions stressantes ce qui a été rapporté par Gupta et Nayyar (2006) que lorsque les feuilles sont soumises à un stress hydrique, elles présentent d'importantes

Chapitre 3. Marqueurs morpho-physiologiques de l'efficacité de l'utilisation de l'eau chez le blé dur en conditions de stress hydrique

réductions dans la teneur relative en eau. La variation génotypique observée peut être due à des différences dans le pouvoir d'assimilation d'eau par le système racinaire d'une part et à la capacité des variétés de contrôler les pertes d'eau par les surfaces évaporatrices ou encore à une meilleure perméabilité membranaire à l'eau d'une autre part (Hamla, 2015 ; Bayoumi et al 2008, Jones et al 2006). Nos résultats sont en accordance avec les travaux de (Ykhlef et al 1998, Bousba,2012 et Hamla et al, 2014).

La variation de la teneur en chlorophylle dans les feuilles sous différents régimes hydriques fournit des informations sur le comportement des génotypes vis-à-vis l'efficacité de l'eau (Bousba et al. 2009).

Dans la présente étude, la teneur en chlorophylle des feuilles de blé dur a diminué considérablement à travers les régimes hydriques. Ces résultats confirment les observations de (Mokhtar et al, 2009 ; Cha-um et Kirdmanee., 2008; Rong-hual et al, 2006 ;Bousba, 2012 ;Izabelaet al., 2013;Hamla el al , 2014) et (Gao et al., 2004) qui montrent que l'absence d'eau conduit à une diminution de la chlorophylle dans les feuilles. Cette diminution qui peut s'expliquer selon Parwata et Collaborateurs (2012) par le fait que le stress hydrique affecte la teneur en chlorophylle en réduisant l'assimilation de l'azote qui est un composant essentiel dans la formation de la chlorophylle. Ainsi, le stress va diminuer la concentration en pigments chlorophylliens.

De plus, la diminution du taux de chlorophylle peut être une résultante de la réduction de l'ouverture des stomates ayant comme conséquence une inhibition prolongée (Hamla, 2015 ; Silva et al, 2007 et Bousbaa et al., 2013). La diminution du taux de chlorophylle en conditions de stress hydrique a été avancée chez plusieurs espèces, maïs (Grezesiak et al 1992), canne à sucre (Silva et al.,2007), tournesol (Nouri., 2011), l'orge (Guo et al.,2009) ainsi que chez le blé (Moualef., 2010 ; Bousbaa 2013 et Hamla.,2015).

Chez le blé, des études précédentes ont montré que les variétés les plus tolérantes ont tendance à maintenir une teneur en eau relativement plus élevée et une plus forte teneur en chlorophylle (Parwata et al., 2012).

Un effet significatif du stress hydrique imposé sur la température foliaire été observé, Le déficit hydrique affecte les feuilles de blé qui augmentent leur température foliaire (Hamla, 2014) ce qui est en accordance avec nos résultats. Outre, le changement de la température foliaire peut être un facteur important dans le control de l'état hydrique des feuilles dans des

Chapitre 3. Marqueurs morpho-physiologiques de l'efficacité de l'utilisation de l'eau chez le blé dur en conditions de stress hydrique

conditions de sécheresse. La capacité de certains génotypes à maintenir des températures foliaires plus basses résulte de la mise en place des mécanismes leur permettant de maintenir un statut hydrique foliaire plus favorable d'où une meilleure ouverture stomatique. Par conséquent l'influx en CO₂ vers les chloroplastes sera prolongé plus longtemps. Ainsi, cela produira un meilleur taux de photosynthèse (Silva et 2007 ; Hamla,2015).

Shakeel (2011) suggère que les espèces tolérantes aux stress hydrique maintiennent une efficacité de l'utilisation de l'eau (EEU) élevée en réduisant l'eau perdue par transpiration. Nos résultats ont confirmé cette hypothèse, les génotypes présentant de faibles valeurs de la température foliaire ont maintenue une EEU élevée en conditions de stress hydrique.

En outre, les régimes hydriques imposés ont entraîné des changements à l'échelle morphologique. La présente étude révèle un effet significatif de la contrainte hydrique sur les paramètres morphologiques étudiés.

La surface foliaire détermine progressivement à la fois les quantités d'eau utilisées par la plante sous forme de transpiration et les quantités de carbone fixées par voie photosynthétique. En effet, Selon des travaux précédents menés par (Blum 1996 ; Passioura 2002 ; Najem 2005 et Boutraa 2010) qui ont montré que la réduction de la surface foliaire est considérée comme une réponse ou adaptation au manque d'eau. Cette réduction est un moyen judicieux pour le contrôle des pertes d'eau. Cette stratégie permet à la plante d'économiser l'eau qui sera utilisée pour la survie au cours du stress et s'adapter à un environnement peu favorable. Or, la réduction de la surface foliaire tend à minimiser les pertes en eau en réduisant la transpiration (Amor et al., 2005).

La diminution de la surface foliaire en condition de manque d'eau a été avancée par plusieurs auteurs (Najem,2005, Boutraa 2010 ; Moulef,2010 et Hamla,2015).

Selon (Adjabi, 2007), les plantes à surface foliaire plus grande peuvent tolérer la déshydratation et maintenir un potentiel hydrique élevé. Par contre, Kirkham et al. (1983), suggèrent qu'une surface foliaire réduite peut être avantageuse, du fait qu'elle réduit effectivement les pertes en eau totale de la plante. Selon Abbassenne (1997), une variété avec une faible surface foliaire est capable de faire un bon rendement grâce à une meilleure efficacité d'utilisation de l'énergie lumineuse par unité de surface foliaire.

Chapitre 3. Marqueurs morpho-physiologiques de l'efficacité de l'utilisation de l'eau chez le blé dur en conditions de stress hydrique

Dans la présente étude, les résultats ont révélé une corrélation positive significative entre EUE et la surface foliaire SF sous un stress hydrique : ($r= 0.49^{**}$ pour le régime 60%CC et $r= 0.73^{**}$ pour le régime 20%CC). L'association d'une EUE élevée avec une surface foliaire élevée est en conformité avec les résultats de Boogaard (1997) qui estime que cette corrélation est un résultat promoteur qui devrait encore être testé sur champ.

Le poids spécifique foliaire (Psf) indique la masse sèche de feuilles par unité de surface. Il a été largement exploité comme un marqueur morpho-physiologique fiable contribuant à la tolérance à la sécheresse pour diverses plantes cultivées (Mohammadreza et al., 2014).

Un poids spécifique foliaire élevé est un indicateur d'une meilleure capacité photosynthétique, d'une moindre sensibilité à la photo-inhibition et de la consistance de l'appareil photosynthétique (Araus et al., 1998).

Yekhlef et al, (1998) suggèrent que la sécheresse entraîne une augmentation du poids spécifique foliaire, cette augmentation qui a été avancée chez le blé (Najem,2005) ainsi que chez certains arbres fruités comme les pêches (Martinez, 2010), l'amandiers sauvages (Mohammadreza,2014).

Chapitre 3. Marqueurs morpho-physiologiques de l'efficacité de l'utilisation de l'eau chez le blé dur en conditions de stress hydrique

Conclusion

L'état hydrique de la plante est un facteur très indicateur de la croissance et du développement, son utilisation efficace, peut être un indice incontournable dans l'étude et la sélection des plantes. Le comportement hydrique des variétés de blé dur a été analysé à travers quelques paramètres liés à l'état hydrique en appliquant différents niveaux de stress. L'étude a été menée sous serre en conditions semi-contrôlées en appliquant trois régimes hydrique différents 95%,60%,20% de la capacité au champ. Les mesures ont été effectuées sur la 4^{ème} feuille.

A ce stade de développement et pour la majorité des paramètres étudiés le stress modéré (de 60%CC) n'a pas beaucoup affecté les plantes. La réponse des variétés étudiées à la contrainte hydrique imposée a été principalement caractérisée par : Une diminution de la teneur relative en eau, du taux de déperdition et du potentiel osmotique, mais aussi une augmentation significative de la conductivité électrolytique.

L'analyse statistique des résultats a révélée des différences significatives entre les traitements appliqués ainsi que entre les génotypes étudiés. L'évaluation des paramètres liés à l'état hydrique de la plante peut être un critère important dans la sélection des cultivars sensible/résistant chez le blé dur.

L'efficacité de l'utilisation de l'eau est contrôlée par plusieurs mécanismes physiologiques, elle est considérée comme un trait important associé à la tolérance à la sécheresse des plantes cultivées. Dans ce travail, nous avons étudié l'EUE et ses composantes à l'échelle de la plante sur dix cultivars de blé dur algériens cultivés sous serre et sous trois régimes d'alimentation hydrique 95%,60%,20% CC. D'autres paramètres morphologiques et physiologiques ont été également mesurés (teneur en eau relative, teneur en chlorophylle), température foliaire conductance stomatique, surface foliaire et poids spécifique foliaire).

Les résultats obtenus révèlent des différences dans le comportement des variétés étudiés vis-à-vis de la contrainte hydrique qui a entraîné une différence de sensibilité entre les génotypes considérés. Cette différence est essentiellement liée au niveau de stress imposé (modéré ou sévère, pour la majorité des paramètres étudiés le stress modéré n'a pas beaucoup affecté les plantes en terme de réponses physiologiques et morphologiques.

Chapitre 3. Marqueurs morpho-physiologiques de l'efficacité de l'utilisation de l'eau chez le blé dur en conditions de stress hydrique

L'effet d'un stress sévère affecte les plantes par : une diminution de la matière sèche totale ainsi que la quantité d'eau utilisée ce qui a aboutit à une augmentation de l'efficacité de l'utilisation de l'eau pour la majorité des variétés, une diminution de la conductance stomatique, de la teneur relative en eau, du taux de chlorophylle, de la surface foliaire et une augmentation de la température foliaire et du poids spécifique foliaire.

Les génotypes qui ont montré des valeurs élevées de l'efficacité de l'utilisation de l'eau, de la matière sèche totale, de la teneur en chlorophylle et de la surface foliaire en conditions de stress hydrique pourraient être suggérés comme génotypes tolérants à la sécheresse.

L'utilisation des paramètres morpho-physiologiques pour la caractérisation de l'efficience hydrique a été fiable, nos résultats ont fait ressortir des corrélations significatives entre EUE et quelques paramètres morpho-physiologiques étudiés tels que l'eau utilisée (EU), la conductance stomatique $g(s)$, ainsi que la surface foliaire. Ainsi, ces caractères peuvent être proposés comme des marqueurs à prendre en considération en étudiant l'efficacité de l'utilisation de l'eau.

Chapitre 4.

***Etude physiologique et
moléculaire de l'implication des
Aquaporines dans la réponse au
stress hydrique chez le blé dur***

Chapitre 4. Etude physiologique et moléculaire de l'implication des Aquaporines dans la réponse au stress hydrique chez le blé dur

I. Effet du chlorure de mercure $HgCl_2$ sur l'activité des Aquaporines (*Traits physiologiques de la réponse des Aquaporines au stress hydrique*).

Lorsque la fonction des Aquaporines est étudiée au niveau physiologique, le chlorure de mercure $HgCl_2$ est utilisé comme inhibiteur de l'activation des AQP (Tyrman et al 1999, Javot et al 2007, Zhao et al 2010). Ainsi, il existe une relation complexe entre les AQP et le stress de mercure qui va conduire au changement des traits physiologiques liés à l'eau (Forrest et al., 2008). La relation entre l'activité des AQP et les indicateurs de l'efficacité de l'utilisation de l'eau (EUE) a été investiguée à l'échelle physiologique.

1. Effet de chlorure de mercure $HgCl_2$ sur la conductance stomatique

Les résultats obtenus montrent une différence dans la réponse des variétés au traitement au chlorure de mercure $HgCl_2$. L'effet des différentes concentrations du $HgCl_2$ sur les génotypes étudiés est indiqué dans la figure 23.

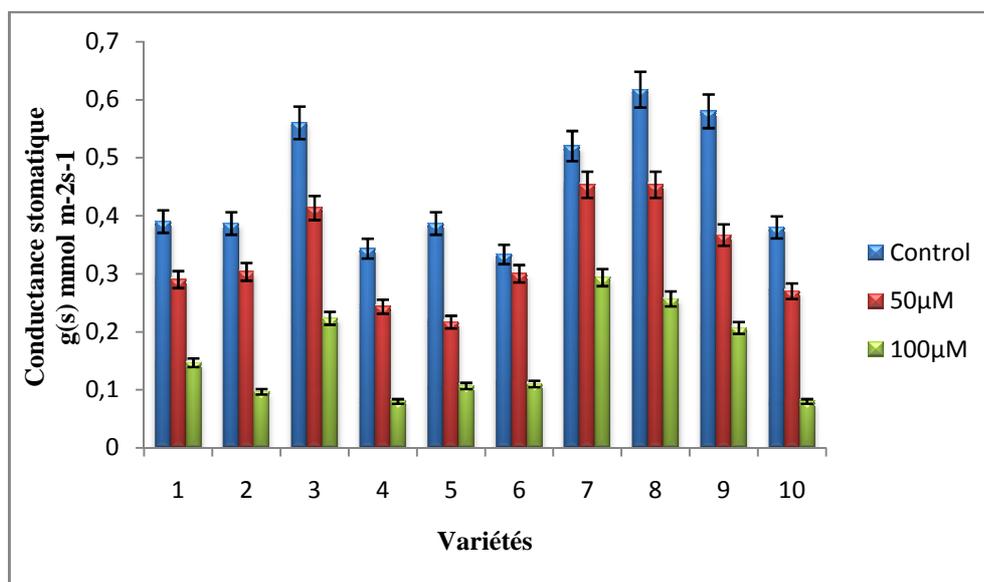


Figure 23 : Les valeurs de la conductance stomatique de dix variétés de blé dur soumises à différentes concentrations de $HgCl_2$. **1.** Waha, **2.** Cirta, **3.** Beliouni, **4.** Rahouia, **5.** Mohamed benBachir. **6.** Djneh Khotaifa, **7.** Bouslem, **8.** Simeo, **9.** Gemgoum R'khem, **10.** Bidi17. Les valeurs représentent les moyennes \pm SE

Chapitre 4. Etude physiologique et moléculaire de l'implication des Aquaporines dans la réponse au stress hydrique chez le blé dur

Contrairement aux plantes témoins, les plantes traitées aux HgCl_2 ont diminué leur conductance stomatique (gs). On remarque que les variétés concernées agissent d'une manière différente au stress au mercure imposé mais aussi à la concentration appliquée. On note que pour la concentration [50 μM] les valeurs élevées de la g(s) sont présentées par les variétés Sim, Bous et GGR avec (0.45, 0.45 et 0.36 $\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) respectivement. Les valeurs minimales ont été enregistrées chez les variétés MBB, RAH et Bidi avec 0.21, 0.24 et 0.27 $\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ respectivement.

De plus, en augmentant la concentration du HgCl_2 à [100 μM] on remarque une diminution considérable de la conductance stomatique chez toutes les variétés, les valeurs minimales de g(s) sont présentées par les variétés RAH et Bidi avec 0.08 $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ suivies par la variété Cir avec 0.09 $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Pour exception, les variétés Bous et GGR et Sim ont présenté une tolérance à ce stress et elles ont maintenue des valeurs plus au moins élevée.

L'analyse de la variance ANOVA a révélé une différence hautement significative entre les variétés mais aussi entre les traitements ($P < 0,0001$) (Tableau 12).

Tableau12. Carrés moyens de l'analyse de variance de la conductance stomatique de dix géotypes de blé dur soumis à différentes concentrations de HgCl_2 .

Facteurs	Conductance stomatique g(s)
Géotypes (G)	0,068 ***
Traitement (T)	0,636 ***
Interaction (G X T)	0,003 ^{Ns}

Ns : effet non significatif, * : effet significatif $p < 0,05$, ** : effet hautement significatif $p < 0,01$, *** : effet très hautement significatif $p < 0,001$.

2. Effet du chlorure de mercure HgCl_2 sur le taux de transpiration

Le taux de la transpiration journalière peut être un bon indicateur de l'activité des Aquaporines ainsi que de l'efficacité de l'utilisation de l'eau (EUE), une faible transpiration va contribuer à une EUE élevée.

L'évolution de la transpiration journalière des variétés soumises à différentes concentrations de chlorure de mercure est indiquée dans la figure 24. Les résultats obtenus révèlent une diminution significative de la transpiration suite à l'application du traitement HgCl_2 pour toutes les variétés. Cette diminution s'accroît en augmentant la concentration de l'inhibiteur HgCl_2 .

L'absorption de l'eau par les plantes augmente pendant la journée et atteint son maximum à 13 :00h et elle diminue après 14 :00h. En conditions contrôle, le taux maximal de la transpiration journalière a été enregistré chez les variétés Bidi, Cir, RAH et BEL avec (90,85,70 g/plante) respectivement. Pour la première concentration appliquée [$50\mu\text{M}$] le taux maximal a été enregistré chez la variété Bidi avec 60g/plante.

Pour la deuxième concentration [$100\mu\text{M}$], les variétés Dk, W, MBB ont présenté les taux maximaux de la transpiration avec 40g/plante.

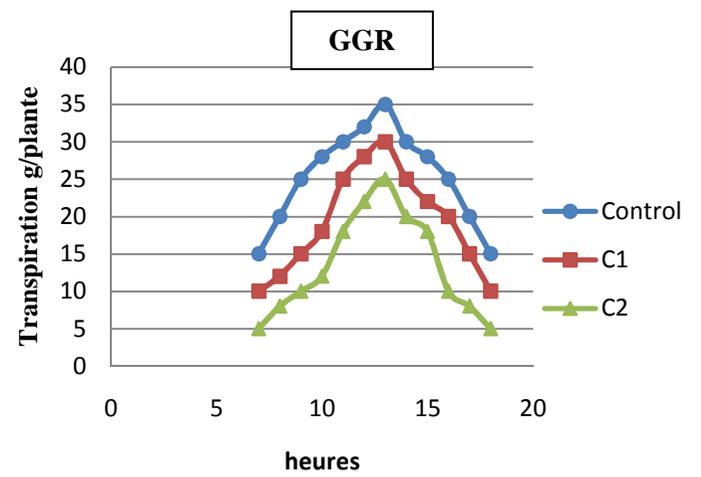
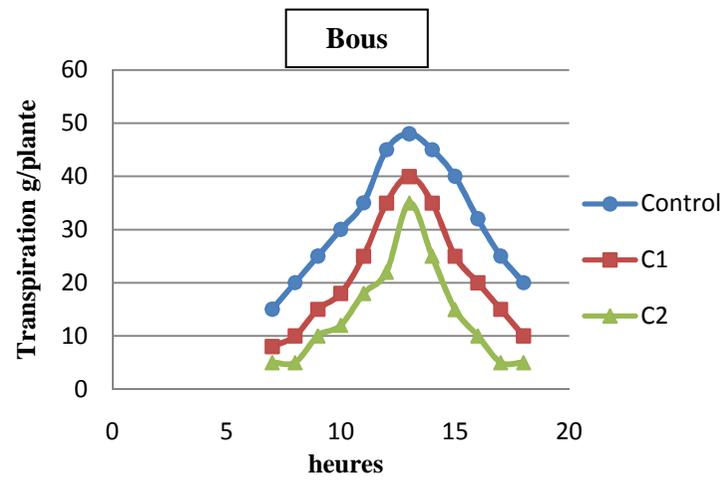
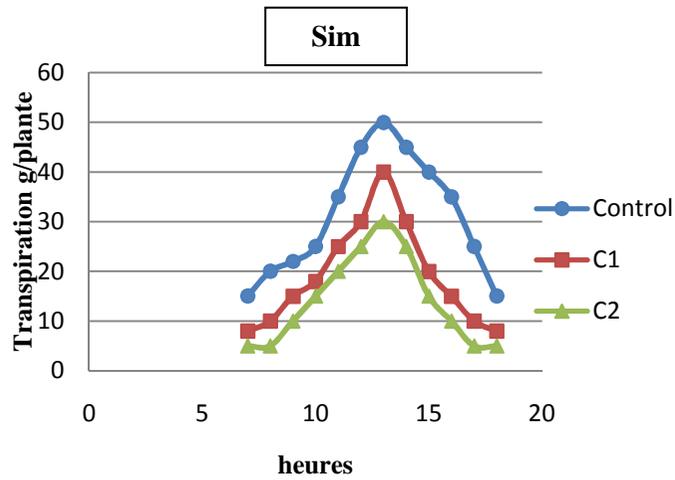
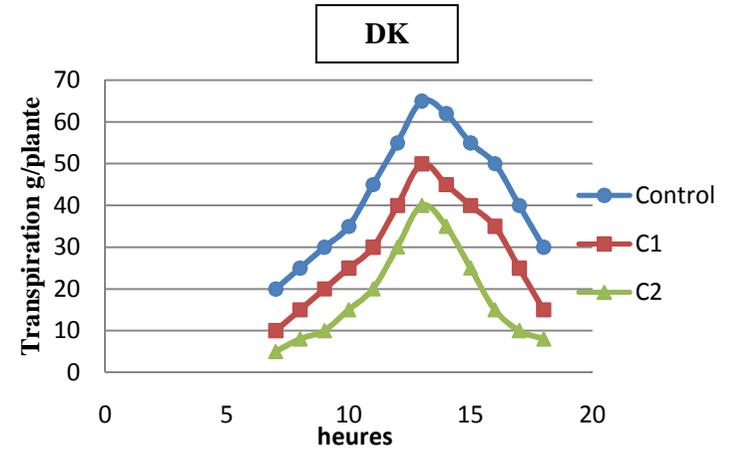
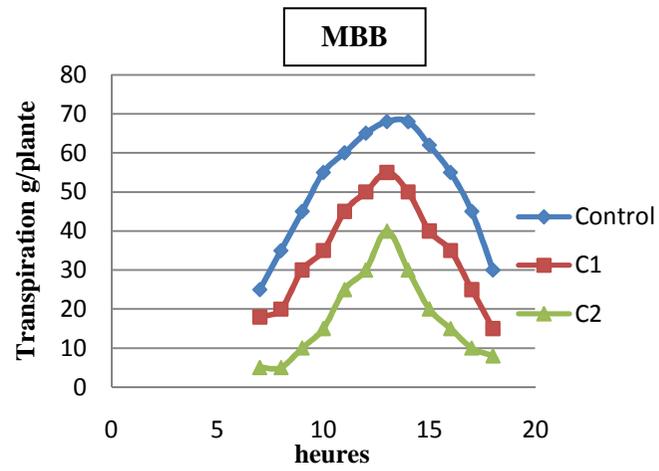
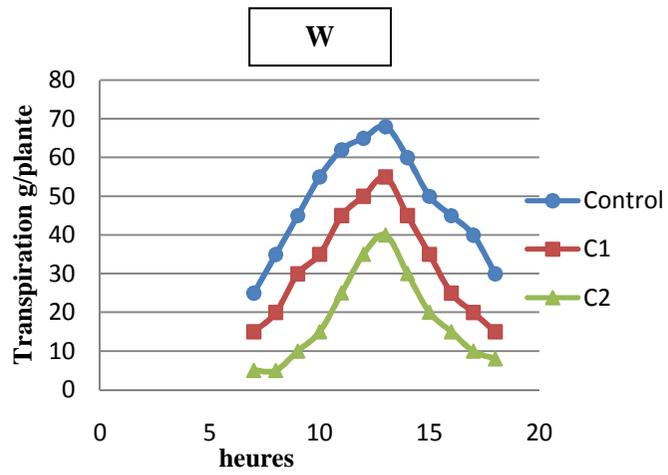
Selon les réponses différentes des variétés aux différentes concentrations appliquées on peut les classer en trois groupes :

On note que les variétés Cir, Bidi, RAH et BEL sont les géotypes les plus sensibles au traitement HgCl_2 , contrairement à leurs plantes témoins ces variétés ont enregistré une chute considérable de la transpiration journalière, pour les deux concentrations appliquées (Figure 24).

Le 2^{ème} groupe présenté par les variétés MBB, Dk, W qui étaient moyennement sensibles au traitement HgCl_2 , on remarque que ces cultivars ont enregistré une diminution modérée du taux de transpiration pour les deux concentrations C1 et C2 par rapport au contrôle.

Le troisième groupe présenté par les variétés Bous, GGR et Sim, ces variétés ont montré une tolérance au traitement au mercure et elles ont enregistré des taux de transpiration plus au moins proches de celles des plantes contrôles (Figure 24), Ces résultats indiquent que le chlorure de mercure n'a pas affecté les plantes qui ont maintenu un rythme normal de transpiration.

Chapitre 4. Etude physiologique et moléculaire de l'implication des Aquaporines dans la réponse au stress hydrique chez le blé dur



Chapitre 4. Etude physiologique et moléculaire de l'implication des Aquaporines dans la réponse au stress hydrique chez le blé dur

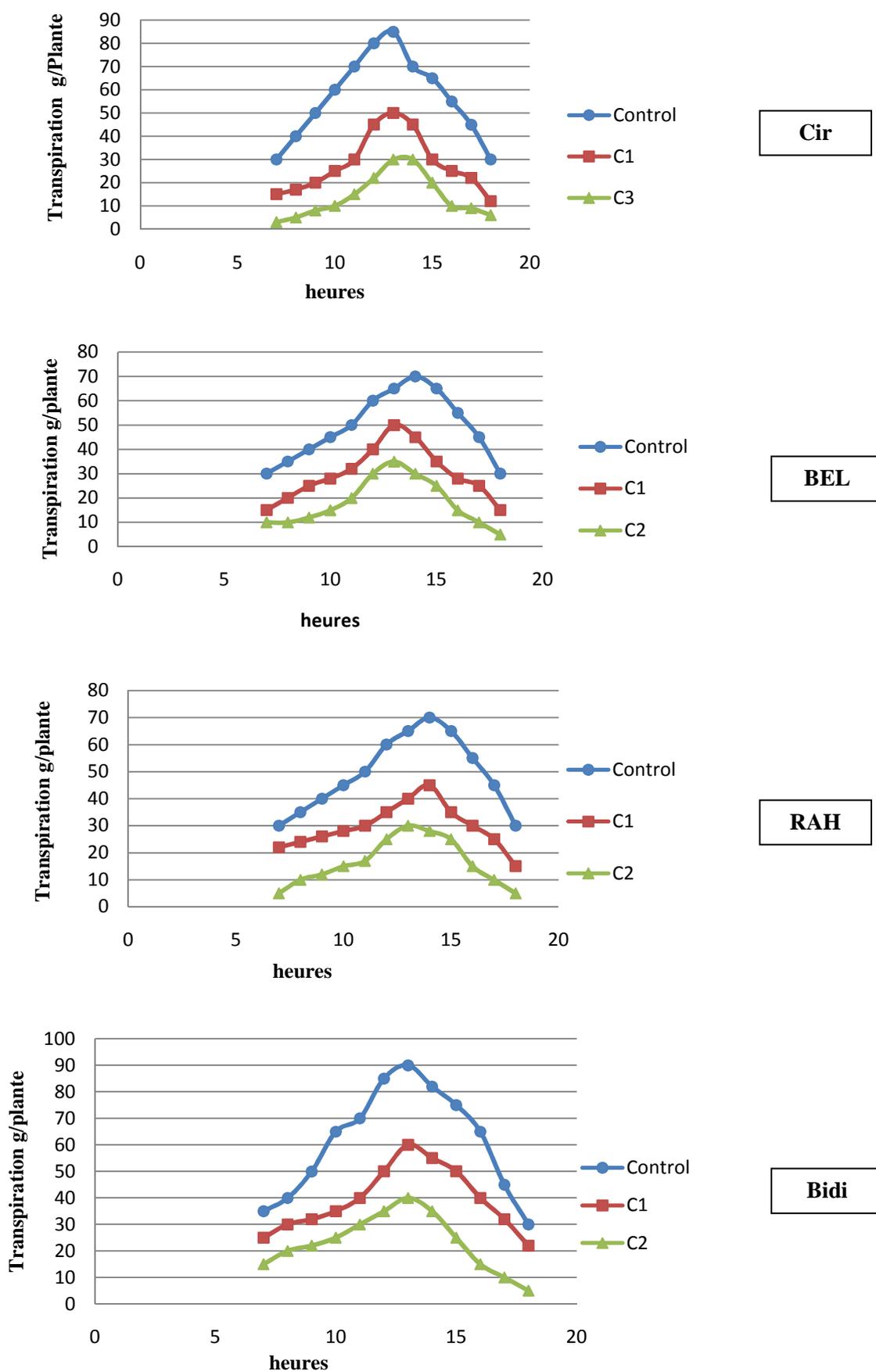


Figure 24. Evolution de la transpiration journalière de dix génotypes de blé dur soumis à différentes concentrations de $HgCl_2$.

Chapitre 4. Etude physiologique et moléculaire de l'implication des Aquaporines dans la réponse au stress hydrique chez le blé dur

II. Analyse de la réponse biochimique et moléculaire de quelques variétés de blé dur à un stress hydrique

1. Profils électrophorétiques 1D SDS-PAGE des protéines totales foliaires

Afin de mieux comprendre les bases moléculaires de la protéomique de la tolérance à la sécheresse une analyse des protéines totales 1D-SDS-PAGE a été réalisée sur des feuilles de blé dur soumises à trois régimes hydriques différents 95%, 60% et 20% de la capacité au champ.

Les profils électrophorétiques ont montré une différence dans le nombre des bandes révélées, en termes de présence et d'absence de bandes mais aussi en termes de leur intensité. Les profils protéiques révèlent des variations entre les génotypes étudiés mais aussi entre les traitements appliqués (Figure 25) Les résultats obtenus concernant ce paramètre montrent des différences variétales, par rapport au nombre de bandes spécifiques et communes.

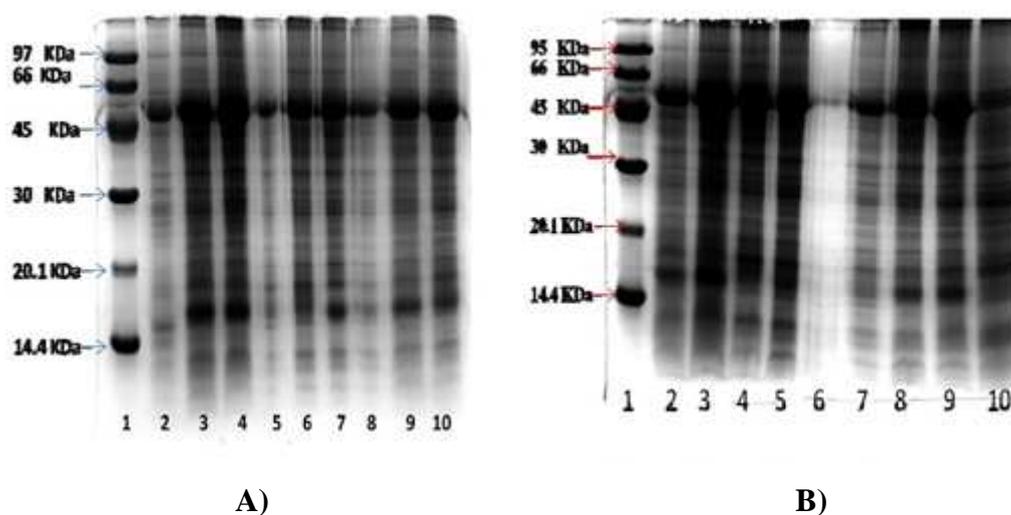


Figure 25. Profils électrophorétiques SDS-PAGE des protéines extraites à partir des feuilles de blé dur soumises à différents régimes hydriques.

A). 1 : LMW Kit ; 2 : W Témoin ; 3 : W N1 ; 4 : W N2 ; 5 : Cir Témoin ; 6 : Cir N1 ; 7 : Cir N2 ; 8 : BEL Témoin ; 9 : BEL N1 ; 10 : BEL N2.

B). 1 : LMW Kit ; 2 : Bous Témoin ; 3 : Bous N1 ; 4 : Bous N2 ; 5 : Bidi Témoin ; 6 : Bidi N1 ; 7 : Bidi N2 ; 8 : MBB Témoin ; 9 : MBB N1 ; 10 : MBB N2.

Chapitre 4. Etude physiologique et moléculaire de l'implication des Aquaporines dans la réponse au stress hydrique chez le blé dur

Ainsi le traitement des gels par *Soft Photocapt8* a révélé 192 bandes dont le poids moléculaire varie entre 9,1 KDa et 149,7 kDa parmi lesquelles on distingue 78 bandes chez les témoins et 103 bandes chez les deux niveaux de stress (Tableau 13).

Nos résultats montrent l'apparition de 40 nouvelles bandes chez les plantes stressées uniquement : la bande 51,8KDa présente chez la variété Bous pour les deux niveaux de stress, les bandes 17KDa, 18,6KDa, 23,2KDa et 24,2KDa présentent chez la variété Bel et la bande 107,2KDa chez W. Il faut noter aussi qu'il existe 48 bandes présentes chez les témoins et qui sont inhibées chez les stressées comme le cas des bandes 105,6KDa et 134 KDa chez W, la bande 119,7KDa chez la variété Bous.

Tableau 13. Récapitulatif du nombre de bandes révélés par électrophorèse SDS -PAGE de six variétés de blé dur sous trois régimes hydriques.

Variétés	Niveau de stress	nombre de bandes
Waha	Témoin	14
	N1 60% C.C	18
	N2 20% C.C	15
Cirta	Témoin	11
	N1 60% C.C	18
	N2 20% C.C	20
Beljouni	Témoin	13
	N1 60% C.C	18
	N2 20% C.C	19
MBB	Témoin	11
	N1 60% C.C	17
	N2 20% C.C	14
Bous	Témoin	13
	N1 60% C.C	14
	N2 20% C.C	15
Bidil7	Témoin	16
	N1 60% C.C	18
	N2 20% C.C	20

Chapitre 4. Etude physiologique et moléculaire de l'implication des Aquaporines dans la réponse au stress hydrique chez le blé dur

De plus, on a noté l'apparition de 79 nouvelles bandes pour chaque niveau de stress chez les six variétés étudiées : la bande 130 KDa a été révélée chez les plantes stressés de la variété Cir sous un stress de 60 % C.C, la bande 130,8 KDa a été observée chez les plantes stressées de la variété Bel sous un stress sévère de 20% C.C, la bande 9,1KDa a été détectée chez les plantes de la variété MBB stressées à 60% C.C. On a noté également la présence de deux groupes de bandes hors les extrémités du poids moléculaires du marqueur de aille (14,4-97 KDa). Le premier groupe représenté par l'intervalle de bandes allant de 9,1KDa à 13,9KDa présentes seulement chez les variétés Bidi, GGR et MBB, le deuxième groupe présente les bandes qui appartiennent à l'intervalle (102,5KDa ;149,7KDa) et qui sont présentes chez toutes les variétés étudiées à l'exception de la variété MBB.

2. Effet du stress hydrique sur l'expression de deux gènes d'AQPs (TdPIP1.1 et TdPIP2.2)

Les premiers indices sur la fonction des Aquaporines dans les plantes proviennent de l'étude du niveau d'expression de ces protéines dans différents organes, tissus ou types de cellules selon les stades de développement et en réponse à différentes conditions environnementales (Chaumont.,2014). L'abondance de l'ARNm est aujourd'hui mesurée par les approches de la RT-qPCR, une technique largement utilisée qui nécessite cependant une conception stricte des conditions expérimentales (de la spécificité et de l'efficacité primaire, gènes de références pour la normalisation, la méthode d'analyse) (Bustin et al. 2009).

La présente étude consiste à comparer le niveau d'expression de deux gènes d'Aquaporines TdPIP1.1 et TdPIP2.1 dans des feuilles et des racines de deux variétés de blé dur (Cirta et Bousselam) soumises à un stress hydrique sévère de 20%CC en faisant appel à une analyse PCR quantitative en temps réel, le gène de Tubeline a été utilisé comme gène de référence.

Les résultats obtenus indiquent que les deux gènes étudiés s'accumulent dans les feuilles et les racines pour les deux traitements appliqués (témoins/stress). L'analyse de l'expression montre que les gènes ne répondent pas de la même manière aux traitements appliqués.

Contrairement aux plantes témoins, le gène TdPIP1.1 est réprimé chez les feuilles et les racines en conditions de stress, cette réduction de l'abondance des transcrit TdPIP1.1 est importante chez les feuilles (Figure 26 A). Ainsi, le stress imposé a induit une régulation négative (down-regulation) de ce gène. De plus on remarque que cette régulation négative est plus importante chez la variété Cirta.

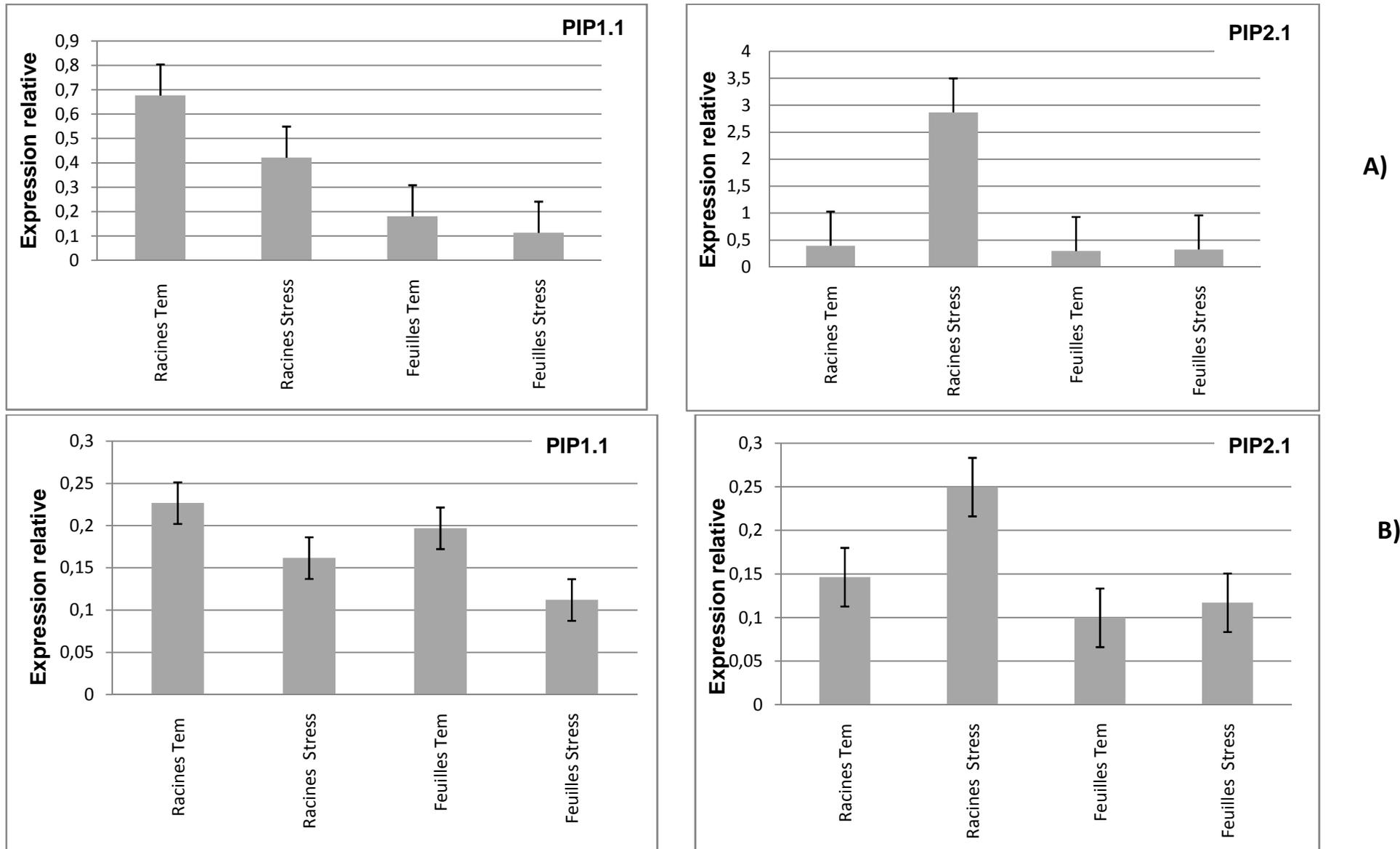


Figure 26. Niveaux de transcription des deux gènes TdPIP1.1 et TdPIP2.1 dans les feuilles et les racines de blé dur soumises à un stress sévère de 20%CC. L'expression relative des ARNm a été calculé selon la formule $2^{-\Delta\Delta Ct}$ en utilisant le gène de la Tubeline comme gène de référence. A) la variété Cir et B) la variété Bous.

Chapitre 4. Etude physiologique et moléculaire de l'implication des Aquaporines dans la réponse au stress hydrique chez le blé dur

A l'inverse, le gène TdPIP2.1 a été positivement régulé (up regulated) en conditions de stress. L'abondance des transcrits ARNm TdPIP2.1 se révèle significative chez les racines des deux variétés étudiées mais plus marquée chez la variété Bous. (Figure 26 B).

Discussion

Le stress hydrique affecte les plantes au niveau protéique d'une manière différente. Certains auteurs rapportent une augmentation des niveaux protéiques ou encore l'absence de l'effet délétère, alors que d'autres sont pour une diminution de ces derniers. Toutefois, des évidences croissantes sont en faveur d'une alternation entre la synthèse d'un ensemble de protéines et la dégradation d'une autre ensemble.

D'autres travaux qui ont été menés sur le blé, ont montré que les protéines totales subissent de nombreux changements de composition liés aux conditions environnementales pendant le remplissage du grain. Plusieurs recherches ont montré que ces modifications sont liées à l'élévation de température (Bousba, 2013).

Dans la présente étude, les régimes hydriques imposés ont entraîné une modification dans la synthèse des protéines pour toutes les variétés étudiées. L'apparition des protéines nouvelles chez les plantes stressées ou l'inhibition de certaines d'autres est une résultante de l'effet des contraintes environnementales dont le stress hydrique (Temagoult, 2009).

Ces protéines ont un rôle dans la tolérance, soit par l'intervention dans la chaîne de transduction permettant une meilleure adaptation au milieu soit en étant des protéines fonctionnelles intervenant directement dans les mécanismes de tolérance au stress notamment hydrique. L'intensité des bandes est directement liée à la concentration en protéines chez le blé (Hamla 2015, De Rodriguez et al., 2002). Parmi les bandes détectées quelques une sont décelées alors que l'apparition d'autres bandes est variable selon le génotype et le niveau de stress appliqué.

Finalement, cette étude a mis en évidence l'existence d'une certaine variabilité génotypique pour l'analyse biochimique effectuée. Ces derniers peuvent donc constituer des critères potentiels pour caractériser la tolérance à la sécheresse chez le blé dur.

L'étude des mécanismes de tolérance au déficit hydrique chez le blé dur (*Triticum Durum* Desf) en se basant sur l'activité des Aquaporines à l'échelle physiologique est très peu étudiée. Nos résultats mettent en évidence la relation entre les paramètres associés à l'efficacité de l'utilisation de l'eau et l'activité des protéines membranaires AQP en conditions de stress au mercure.

Les différents mécanismes de tolérance au mercure peuvent être liés à différentes activités des AQPs ainsi qu'à la capacité adaptative des variétés (Zhao et al 2010). Il a été reporté dans travaux précédents que les ions des métaux lourds bloquent les Aquaporines de plantes inhibant ainsi le transport de l'eau. Par conséquent, l'addition de Hg pourrait indiquer l'importance de ces protéines dans la plante entière ou dans le transport de l'eau cellulaire (Maurel et al. 1993, Maggio et Joly 1995).

Chapitre 4. Etude physiologique et moléculaire de l'implication des Aquaporines dans la réponse au stress hydrique chez le blé dur

Les échanges gazeux se produisent principalement à travers les stomates entourés par deux cellules de garde. Les plantes modulent la transpiration et l'utilisation de l'eau en ajustant la conductance stomatique, qui est déterminée par le mouvement et la densité stomatique.

Dans la présente étude, les différentes concentrations appliquées de HgCl_2 ont affecté significativement la conductance stomatique et le taux de transpiration de toutes les variétés étudiées.

Chez le blé Zhao et al (2014) rapportent que l'accumulation rapide des ions Hg^{2+} dans les feuilles et les systèmes racinaires des plantes de blé a perturbé les processus normaux de transpiration de l'eau et de la photosynthèse conduisant ainsi à une réduction de la photosynthèse et la transpiration. Pendant ce temps, l'effet de Hg^{2+} a probablement induit ou stimulé certaines protéines telles que les Aquaporines afin d'améliorer la perméabilité de l'eau favorisant ainsi la progression de la photosynthèse de la transpiration. De plus, les résultats d'autres études suggèrent que les plantes exposées à un déficit hydrique ou un stress au mercure modéré pourrait améliorer l'efficacité de l'utilisation de l'eau des feuilles.

La réduction de la conductance stomatique sous un stress au mercure a été avancé chez le blé ainsi que chez d'autres espèces le peuplier (Wan et al 1999), le poivrier (Carmen, et al 2003) ce qui a été en accordance avec nos résultats. Etant donné que le niveau d'expression des AQP dans l'épiderme est plus élevé que dans les autres tissus foliaires, les AQP peuvent être impliquées dans les mouvements stomatiques. De même il existe une grande quantité des AQP dans les feuilles de blé (Sun et al, 2001, Zhao et al, 2010).

Les différents motifs de régulation de la transpiration peuvent être liés au niveaux d'expressions des Aquaporines (activation/inhibition) dans les feuilles et les racines des plantes de blé dur. Quand la transpiration augmente les protéines AQP sont activées permettant à la plante d'absorber plus d'eau (Zhao et al, 2010). Ce qui a été observé dans l'intervalle (8h-13h). Quand la transpiration diminue les Aquaporines sont inhibées et la plante ferme les canaux hydriques et ainsi le taux de transpiration diminue. Les différents niveaux de régulations des AQP sont liés à la capacité des plantes de blé de résister à la sécheresse (Zhao et al, 2010).

Nos résultats montrent que sous un stress de mercure les variétés ont présenté des capacités de résistance ou de tolérance différentes ce qui est fortement lié avec les différentes activités des AQP ainsi qu'avec les capacités adaptatives des variétés. Par ailleurs, nos résultats ont permis de distinguer des différences dans la sensibilité au traitement HgCl_2 .

Les résultats révèlent que les variétés Cir, BEL et Bidi, RAH sont des variétés sensibles présentant une sensibilité au traitement au mercure. tandis que les variétés Bous, Sim et GGR ont été plus tolérantes. Les mêmes résultats ont été obtenus sur les mêmes variétés sous un stress hydrique (Bentahar et al., 2015).

Une faible transpiration va contribuer à une EUE élevée, la régulation de l'EUE sous un stress de mercure est dépendante de l'activité des AQP mais aussi des variétés de blé. Les travaux menés par (Zhao et al., 2010)

Chapitre 4. Etude physiologique et moléculaire de l'implication des Aquaporines dans la réponse au stress hydrique chez le blé dur

ont montré que les variétés tolérantes/résistance à la sécheresse ont les mêmes capacités adaptatives au stress de mercure, les mêmes observations ont été faites pour les variétés sensibles.

D'une manière générale, les mécanismes de régulation de l'EUE peuvent être liés à l'expression des AQP sous un stress hydrique. Ceci permet d'obtenir des informations sur le processus compliqué de la résistance à la sécheresse et l'économie de l'eau chez le blé (Zhao et al.,2010).

A l'échelle moléculaire, plusieurs études ont démontré l'implication des Aquaporines dans de nombreux processus physiologiques, notamment dans l'absorption d'eau (Steudle et al 1998 ;Javot et Maurel al 2002 ; Javot et al.,2003 ; Hachez et al.,2006). L'Expression des Aquaporines végétales diffère grandement sous les différentes conditions environnementales et dans différentes espèces. Les AQP sont aussi connues par leur rôle dans la réponse des plantes à la déshydratation, elles peuvent intervenir dans différents aspect de la réponse adaptative des plantes a la sécheresse (Hamla,2015).

Des études in silico du génome de blé ont permis l'identification de 24 gènes PIPs et 11 gènes TIPs (Forest et Bhave., 2008). Parmi ces gènes deux isoformes appartenant a la famille des PIP ont été identifier PIP1.1 et PIP2.1 (Ayadi et al., 2011). Dans la présente étude, les niveaux d'expression de ces deux isoformes PIP1.1 et PIP2.1 ont été évalué. L'expression des gènes AQP pouvant subir : une augmentation, une diminution, voire demeurer inchangée (Maurel., 1997; Kawasaki et al., 2001; Galmes et al., 2007).

Les résultats indiquent que les deux gènes étudiés TdPIP1; 1 et TdPIP2; 1 ont présenté des variations dans leur expression en conditions de stress, ils sont régulés différemment dans les racines et les feuilles de blé, ce qui est en conformité avec les travaux de (Ayadi, et al 2011).

Sous un stress sévère une régulation négative a été détectée chez les transcrits TdPIP1.1 dans les feuilles mais avec une grande accumulation dans les racines de la variété Cir, ce qui est en accordance avec de nombreuses études sur diverses espèces. Zunaira et al (2016) rapportent que la plus part des gènes PIPs qui sont négativement régulés en conditions de stress sont fortement exprimés dans les racines, une forte régulation négative des transcrits des gènes PIPs a été observée sous un stress hydrique dans les racines et les rameaux de plantes d'oliviers (Secchi, et al.,2007) ; dans les racines de tabac (Mahdieh et al.,2008) ; et dans les fruits de la pêche (Sugaya et al.,2002).Chez le fraisier *Fragaria vesca.*, l'expression diurne des gènes PIPs en réponse à différents intensités de stress a révélé que la plus part de PIPs sont négativement régulés dans les racines et que l'expression des deux gènes FvPIP1;1 et FvPIP2;1 a été fortement corrélée à la diminution de la teneur en humidité du substrat. (Zunaira et al.,2016 ; Surbanovski et al .,2013). Chez les feuilles de blé, Elseehy et al (2015) rapportent que trois isoformes PIPs (PIP1,PIP2, PIP3) ont présenté une régulation négative sous un stress induit par le PEG. Chez l' *Arabidopsis thaliana*, une régulation négative des gènes AQP est très fréquemment observée pour la majorité des gènes PIPs, à l'exception les deux isoformes : AtPIP1 ; 4 et AtPIP2 ; 5, dont l'expression augmente (Alexenderson et al., 2005).

Chapitre 4. Etude physiologique et moléculaire de l'implication des Aquaporines dans la réponse au stress hydrique chez le blé dur

En condition déficitaire en eau, la conductivité hydraulique racinaire, qui est régulée partiellement par les PIPs aquaporines, diminue très probablement comme un mécanisme pour éviter l'écoulement de l'eau de la racine dans le sol tandis que le potentiel hydrique du sol diminue (Aroca et al., 2011). En générale, que la régulation négative des gènes PIPs a pour but principale de minimiser la perte d'eau à partir de la plante au sol déshydraté (Maurel et al., 2008) et de empêcher le reflux d'eau dans le sol sec (Alexandersson et al ., 2005).

A l'inverse, le gène TdPIP2.1 a été positivement régulé (up regulated) en conditions de stress. L'abondance des transcrits ARNm TdPIP2.1 est détectée légèrement dans les feuilles, l'expression de ce gène est significative dans les racines de la variété Bous. De nombreuses études rapportent les mêmes observations sur le même isoforme PIP2.1 sur différentes espèces :

le cafetier (Santos et al., 2013) , le riz (Lian et al., 2004), le radie (Sugaya et al., 2002), la vigne (Galmes et al., 2007) , l'haricot (Aroca et al., 2006) ainsi que chez l'olive nain (Lovisololo et al., 2007). Chez le blé dur les travaux menés par (Hamla et al., 2014) sur l'expression du gène PIP2.1 à partir de différents tissus (racines, feuilles, graines) sou un stress hydrique induit par le PEG ont révélé que ce gène est positivement régulé avec une forte expression dans les feuilles. En appliquant un autre mode de stress (régime hydrique à 20% de la capacité au champ) nos résultats indiquent que l'abondance des transcrits TdPIP2.1 a été plus marquante chez les racines.

La régulation positive des gènes AQPs en conditions déficitaire en eau est supposée augmenter la perméabilité membranaire au transport de l'eau, (Yamada et al., 1997), afin de faciliter le flux en eau (Smith et Bhave., 2008). Les AQPs des membranes plasmiques peuvent approvisionner (au moins partiellement) les cellules en eau assimilée, afin de maintenir leur turgescence lorsqu'elles sont sujettes à un stress hydrique (Lian et al., 2004) Globalement, ces gènes sont supposés être impliqués dans le contrôle du statut hydrique des plantes et dans leur capacité de reprise après irrigation (Santos et al., 2013).

Sur la base des données de transcriptome, il est difficile d'identifier un pattern de l'expression des aquaporines en réponse à un stress hydrique. Les approches de la génétique inverse basées sur un ou quelques gènes fournissent un meilleur aperçu de l'ensemble des études de transcriptome. L'implication Crucial des PIP dans la modulation de la conductivité hydraulique des racines (Lpr) en réponse à divers stress environnementaux a été largement observé (Chaumont et al., 2001 ; Siefritz et al., 2002 ; Marte et al., 2002). Une forte sensibilité des plantes au stress hydrique en raison de la réduction de la (Lpr) par le silencing des PIPs a été largement rapportée dans diverses espèces végétales.

Par exemple, chez *Arabidopsis* suite à une inactivation des deux gènes *AtPIP1;2* et *AtPIP2;2* une réduction notable de la perméabilité de l'eau des protoplastes a été observée chez les mutants (Kaldenhoff et al., 1998) avec une réduction de 14% de (Lpr) rendant ainsi ces mutants plus vulnérables à la sécheresse (Javot et al., 2003).

Chapitre 4. Etude physiologique et moléculaire de l'implication des Aquaporines dans la réponse au stress hydrique chez le blé dur

Chez le tabac une réduction de 55% de la (L_{pr}) avec une forte sensibilité au stress hydrique a été observée en ciblant le gène *NtTPIP1* par l'utilisation de la technologie anti-sens. En plus de la diminution de la L_{pr} , une expression réduite de *NtPIP1* a également montré une diminution significative du taux de la transpiration (Siefritz et al.,2002). De plus, en conditions limitantes en eau, le silencing des deux gènes *PpPIP2;1* et *PpPIP2;2* a entraîné un stress phénotype sévère chez la mousse *Physcomitrella patens*.

En se basant sur ces observations, il est plausible que ces aquaporines ciblées jouent un rôle cumulatif comme transporteurs de l'eau et que la diminution de leurs expressions rend les plantes plus vulnérables au stress hydrique en raison de la diminution de la conductivité hydraulique L_{pr} . En outre, il est également possible que la diminution des taux de transpiration provoque une réduction de la photosynthèse, qui à son tour affecte la survie de la plante entière (Lienard et al.,2008).

Constamment, la surexpression du *BnPIP1* à partir du colza (*Brassica napus*) dans les plantes de tabac transgénique conduit à une tolérance élevée au stress de la sécheresse (Yu et al.,2005). De même, des plantes de tabac transgéniques surexprimant le gène *TaAQP7* de l'aquaporine de blé (*PIP2*) étaient plus tolérants à la sécheresse par rapport aux plantes de tabac non transgéniques en raison de l'amélioration des capacités de rétention en eau des plantes transgéniques (Zhou et al.,2012).

Des plantes d'*Arabidopsis* transgéniques exprimant une *PIP1* *Vicia faba* (*VfP1*) a montré une résistance améliorée à la sécheresse, en empêchant la perte d'eau par la transpiration due à l'induction de la fermeture des stomates (Cui et al.,2008). La surexpression du gène fonctionnel *TdPIP2.1* dans les plantes de tabac transgénique entraîne une amélioration de la croissance, de la vigueur ainsi qu'une meilleure tolérance aux stress salin et osmotique (Ayadi et al., 2011).

Les données expérimentales ci-dessus suggèrent que la surexpression des aquaporines rend les plantes plus résistantes au stress hydrique (Zunaira et al.,2016)

Afin de comprendre le rôle des AQPs dans la tolérance à la sécheresse de nombreuses études ont été menées sur les espèces végétales naturellement tolérantes à la sécheresse, La caractérisation fonctionnelle des PIPs dans deux clones de peupliers *Populus balsamifera* P et *simonii* X *P. balsamifera* ayant une sensibilité différentielle a révélé une corrélation claire entre les expressions différentielles des gènes PIPs de l'évitement de la sécheresse et les stratégies de tolérance adoptées par les deux clones. La réduction rapide de la conductance stomatique par la réduction des activités PIPs a été observée dans les feuilles de *P. simonii*X *P. balsamifera* comme un mécanisme d'évitement (Almeida et al.,2010).De plus, l'exposition d'un cultivar tolérant a la sécheresse chez le riz à un stress hydrique a révélé une régulation du gène '*OsPIP1; 3* suggérant son rôle dans l'évitement de la sécheresse (Lian et al.,2004).

Une forte régulation positive de certains PIPs a été observée en condition de stress hydrique chez une Plante succulente (*Craterostigma plantagineum*), tolérante à la déshydratation (Smith et al.,2003).

Chapitre 4. Etude physiologique et moléculaire de l'implication des Aquaporines dans la réponse au stress hydrique chez le blé dur

Le stress hydrique déclenche souvent une régulation négative des niveaux de transcrits d'AQPs, mais ce n'est pas une règle générale. En effet, une régulation positive des gènes spécifiques d'AQPs résistants à la sécheresse a été rapportée. Quelque soit la régulation de l'expression des AQPs (positive ou négative) et les changements correspondants de la perméabilité membranaire ont été effectivement suggéré d'être bénéfique pour les plantes en situation de contrainte hydrique (Hachez et al.,2012).

Zunaira et al (2016) concluent que la réponse des Aquaporines en conditions de sécheresse est très variable en fonction des niveaux de stress, des isoformes, des tissus, des espèces, et de la nature des stimuli entraînant une déshydratation similaire au stress hydrique.

Chapitre 4. Etude physiologique et moléculaire de l'implication des Aquaporines dans la réponse au stress hydrique chez le blé dur

Conclusion

Dans la présente étude, les régimes hydriques imposés ont entraîné une modification dans la synthèse des protéines pour toutes les variétés étudiées. L'apparition des protéines nouvelles chez les plantes stressés ou l'inhibition de certaines d'autres peut être un résultat de la contrainte hydrique imposé.

Nos résultats mettent en évidence la relation entre les paramètres associés à l'efficacité de l'utilisation de l'eau et l'activité des protéines membranaires AQP en conditions de stress au mercure. Les résultats obtenus ont montré que les différentes concentrations de HgCl_2 ont affecté significativement la conductance stomatique de toutes les variétés étudiées. Mais aussi le taux de transpiration qui a été fortement affecté. L'étude des protéines AQP à l'échelle physiologique en utilisant le traitement au chlorure de mercure HgCl_2 nous a permis de distinguer les variétés tolérantes des variétés sensibles.

La quantification des transcrits de deux gènes d'Aquaporines TdPIP1; 1 et TdPIP2; 1 a indiqué qu'ils sont régulés différemment dans les racines et les feuilles de blé. Le gène TdPIP1.1 a été négativement régulé par le stress. Une régulation positive du gène TdPIP2.1 est supposée entraîner une augmentation de la perméabilité membranaire, afin de faciliter le flux d'eau et contrôler le statut hydrique. Ces résultats préliminaires constituent un point de départ de la compréhension de la relation liant l'EUE et l'activité des Aquaporines.

***Conclusion générale
et perspectives***

Conclusion générale

L'efficacité de l'utilisation de l'eau 'EUE' est considérée comme une caractéristique importante associée à la tolérance à la sécheresse des plantes cultivées. La présente étude s'est fixée comme objectif d'étudier les mécanismes physiologiques et moléculaires de l'efficacité de l'utilisation de l'eau chez le blé dur en mettant l'accent sur l'implication des protéines de réponse au stress (Aquaporines) dans le maintien du statut hydrique.

Les résultats de l'analyse physiologique révèlent des différences dans le comportement des variétés étudiées vis-à-vis de la contrainte hydrique. Cette dernière qui a entraîné une différence de sensibilité entre les génotypes étudiés. Cette différence est essentiellement liée à l'intensité du stress imposé (modéré ou sévère).

Le comportement hydrique des variétés de blé dur a été analysé à travers quelques paramètres liés à l'état hydrique en appliquant différents niveaux de stress. Les résultats de l'expérimentation ont fait ressortir un effet significatif des traitements imposés sur les variétés étudiées. Les résultats ont montré que la diminution de la teneur relative en eau a été accompagnée par une diminution du taux de déperdition de l'eau ainsi que du potentiel osmotique d'une part et d'une augmentation du taux d'électrolytes dans les membranes d'autre part. L'évaluation des paramètres liés à l'état hydrique de la plante peut être un critère important dans la sélection des cultivars sensible/résistant chez le blé dur.

Par ailleurs, l'étude de l'efficacité de l'utilisation de l'eau en conditions de stress hydrique a révélé que les variétés étudiées ont mis en place différentes stratégies pour conférer la contrainte hydrique.

Outre, l'effet d'un stress sévère se caractérise principalement par une diminution de la matière sèche totale ainsi que la quantité d'eau utilisée ce qui a abouti à une augmentation de l'efficacité de l'utilisation de l'eau pour la majorité des variétés. De plus, une diminution de la teneur relative en eau, du taux de déperdition, du potentiel osmotique, de la conductance stomatique, et du taux de chlorophylle, de la surface foliaire. Mais aussi une augmentation significative de la température foliaire et du poids spécifique foliaire. Nos résultats ont montré que les variétés Bousselam, Gemgoum R'khem et Simeto ont présentées une efficacité de l'utilisation de l'eau élevée accompagnée d'une faible quantité d'eau consommée en conditions de stress hydrique.

L'utilisation des paramètres morpho-physiologiques pour la caractérisation de l'efficacité hydrique a été fiable, nos résultats ont fait ressortir des corrélations significatives entre l'efficacité de l'utilisation de l'eau et quelques paramètres morpho-physiologiques étudiés tels que l'eau utilisée (EU), la conductance stomatique $g(s)$, ainsi que la surface foliaire. Ainsi, ces caractères peuvent être proposés comme des marqueurs à prendre en considération en étudiant l'efficacité de l'utilisation de l'eau.

L'analyse des profils électrophorétique des protéines foliaires nous a aidé à faire une présélection des variétés (tolérantes/sensibles) au stress hydrique en se basant sur l'apparition des protéines nouvelles ou l'inhibition de certaines d'autres qui est une résultante de l'effet de la contrainte hydrique imposée. Cette présélection nous a été utile dans la partie moléculaire. L'étude des protéines AQPs à l'échelle physiologique en utilisant le traitement au chlorure de mercure $HgCl_2$ nous a permis de distinguer les variétés tolérantes des variétés sensibles. Les résultats ont montré que les variétés Cirta, Rahouia et Bidi et Beliouni mettent en place des mécanismes d'adaptation physiologique afin de confronter le stress imposé en réduisant la transpiration et la conductance stomatique. Les variétés Simeto, Bousselam et Guemgoum R'khem ont présentées une tolérance à ce stress et maintenues un taux de transpiration élevée sous une forte concentration de $HgCl_2$.

La quantification des transcrits de deux gènes d'aquaporines TdPIP1; 1 et TdPIP2; 1 a indiquée qu'ils sont régulés différemment dans les racines et les feuilles de blé. Le gène TdPIP1.1 a été négativement régulé par le stress. Une régulation positive du gène Td PIP2.1, est supposée entraîner une augmentation de la perméabilité membranaire, afin de faciliter le flux d'eau et contrôler le statut hydrique. Nos résultats mettent en relief une combinaison des mécanismes physiologiques et moléculaires pour faire face à la contrainte hydrique imposée. De plus, nos résultats mettent en évidence l'implication des protéines Aquaporines dans la réponse au stress hydrique chez le blé dur. Chez les deux variétés Cirta et Bousselam, les résultats de l'analyse moléculaire confirment ceux obtenus lors de la caractérisation de la réponse physiologique au stress hydrique.

La stratégie adaptative adoptée par la variété Cirta sur le plan physiologique par la diminution du statut hydrique, de la transpiration, et de la conductance stomatique est due principalement à une régulation négative du gène TdPIP1.1 au niveau des racines. En revanche, chez la variété Bousselam un taux élevé de la transpiration ainsi que de l'efficacité d'utilisation de l'eau est la résultante d'une régulation positive des transcrits du gène TdPIP2.1 dans les

racines. Ces résultats préliminaires constituent un point de départ de la compréhension de la relation liant l'efficacité de l'utilisation de l'eau et l'activité des Aquaporines en conditions de sécheresse.

Comme perspectives à cette étude préliminaire, il semble important de vérifier les résultats obtenus dans la partie physiologique sur champ, l'étude doit s'étendre à l'analyse des paramètres aussi importants que la conductance stomatique, l'eau consommée, et la matière sèche totale, la surface foliaire entre autres. Outre, la corrélation positive significative entre la surface foliaire et l'efficacité de l'utilisation de l'eau pourrait être un résultat important à considérer dans des études ultérieures. Ainsi, ces traits peuvent être considérés comme des marqueurs de morpho-physiologiques de l'efficacité de l'utilisation de l'eau dans des conditions de sécheresse. Sur le plan moléculaire, la quantification des niveaux d'expression des deux gènes d'aquaporines peut être considérée comme un point de départ et doit être confirmée sur d'autres variétés afin de mieux comprendre les relations existantes entre l'expression de ces gènes et l'efficacité de l'utilisation de l'eau en conditions de stress hydrique. A cet effet, on envisage des analyses plus élaborées sur le système racinaire.

***Valorisation et
productions scientifiques***



RESEARCH ARTICLE

Morpho-physiological markers associated with Water Use Efficiency in Algerian durum wheat at different water regimes

Soumia Bentahar*¹, Abdelhamid Djekoun¹, Nadia Ykhlef¹

¹ Genetics, Biochemistry and Plant Biotechnology Laboratory 'Team II Biotechnology and Plant Amelioration'. Faculty of Nature and Life Science, Frères Mentouri University, Constantine, Algeria.

Manuscript Info

Manuscript History:

Received: 18 August 2015
Final Accepted: 22 September 2015
Published Online: October 2015

Key words:

Durum wheat, Water use efficiency, morpho-physiological traits, water regimes, correlations.

*Corresponding Author

Soumia Bentahar

Abstract

Water use efficiency is controlled by several physiological mechanisms. It is considered as an important trait that has been associated with drought tolerance of crop plants. In this work, we investigated WUE and its components on ten Algerian durum wheat cultivars of different origins under controlled conditions. Plants were sown at different water regimes (95% considered as well watered treatment, 60%, 20% considered as dry treatments). A set of parameters (relative water content RWC, chlorophyll content (SPAD index), leaf temperature LT°, stomatal conductance (gs), Leaf area (LA) and Specific leaf weight (SLW)) describing plant response to water deficit were measured. WUE was estimated as the ratio of total dry matter on the total water consumption. Our objective was to evidence differences among cultivars in response to drought stress. ANOVA analysis reveals a significant difference between varieties in response to the applied water treatments, Genotypes that have shown high values of WUE, TDM, RWC, Chlorophyll content and LA under dry treatments could be suggested as Algerian drought tolerant genotypes. Based on the correlations between WUE and the studied parameters our study may suggest some morpho-physiological traits associated with water use efficiency and drought tolerance.

Copy Right, IJAR, 2015., All rights reserved

INTRODUCTION

Durum wheat is the most widely grown cereal species in the Mediterranean basin. It holds about 45% of durum wheat cultures in the world. In Algeria cereals holds 60% of cultivated lands. Unfortunately the production is still very low because of the adverse climatic variations and water stress conditions resulting from the dry climate of the region (Bousba et al., 2009). Drought is the most devastating abiotic stress affecting crop productivity (Reyazul el al., 2012). It occurs when the available water in the soil is reduced and atmospheric conditions cause continuous loss of water by transpiration or evaporation (Xiao-li, et al., 2012; Sankar et al., 2008). Plant water use efficiency (WUE) is becoming a key issue in semiarid areas, where crop production relies on the use of large volumes of water (Medrano et al 2015). It is considered as an important trait that has been associated with drought tolerance of crop plants. WUE can be measured at different scales, ranging from instantaneous measurements on the leaf to more integrative ones at the plant and crop levels (Medrano et al 2015), at the plant scale and ignoring evaporation from the soil WUE is defined as the ratio of biomass production and the amount of water used over a certain period (Boogaard, 1997). It was observed that plants can improve their WUE in response to drought stress condition. The Water Use Efficiency (WUE) characteristic as an important screening technique can help in discovering significant variation among the genotypes (Condon et al., 2002).

In response to water stress, plants develop different mechanisms (morphological, physiological and biochemical) which inhibit or remove the harmful effects of stresses. (Izabela et al., 2013). Generally, reduction in stomatal

conductance (gs) and evapotranspiration (E) under drought result in higher WUE due to the plant rapidly adjusting water loss through transpiration and absorption of CO₂ through stomata regulation (Xiao-li, et al.,2012). It has been reported by Cowan (1988) that regulating stomata apertures in leaves can regulate leaf WUE under limited water condition. Moreover, change in leaf temperature may be an important factor in controlling leaf water status under drought stress (Shakeel et al., 2011). Some researchers reported that higher leaf temperature may have important consequences on the longevity and photosynthetic capacity of individual leaves and have further affects on leaf WUE ((Xiao-li, et al.,2012;McNaughton and Jarvis, 1991). Leaf water status may accurately define the demand and supply of water. Relative Water Content (RWC) is an important determinant of metabolic activity and the survival of leaves (Öner et al., 2014) and is an attribute for discriminating drought tolerant and sensitive genotypes (Rauf, 2008).Chlorophyll concentration is known to be one of the major factors affecting photosynthetic capacity; (Öner et al.,2014) .The decrease in chlorophyll content under drought stress has been considered a typical symptom of oxidative stress and may be the result of pigment photo-oxidation and chlorophyll degradation. The permanent or temporary water deficit severely hampers the plant growth and development more than any other environmental factor (Shakeel et al., 2011). Water deficit reduces the number of leaves per plant and individual leaf size, leaf longevity by decreasing the soil's water potential. Leaf area expansion depends on leaf turgor, temperature, and assimilating supply for growth (Shakeel et al., 2011). Drought-induced reduction in leaf area is ascribed to suppression of leaf expansion through reduction in photosynthesis (Rucker et al., 1995). A common adverse effect of water stress on crop plants is the reduction in fresh and dry biomass production (Zhao et al., 2006). Specific leaf weight SLW indicates leaf dry mass per area. It has been widely exploited as a reliable morpho-physiological marker contributing to drought tolerance for various crop plants (Mohammadreza et al., 2014).The present study aims to study ten durum wheat genotypes responses to different water regimes and to investigate the relationship between WUE and the morpho-physiological studied traits.

Materials and Methods

Plant material and growing conditions

Ten varieties of durum wheat (*Triticum Durum* Desf L.) local and introduced listed in (Table 1) and provided by the ITGC, Institut Technique des Grandes Cultures (station El Khroub Algeria) were used in this study. Seeds were germinated on petri dishes, after germination seedlings were transferred to plastic pots with mixture of (clay soil / sand 3:1) in greenhouse with an average temperature 25±10 C° and relative humidity 45± 15%.The pots were arranged completely in a randomized block design with three replications for each treatment.

Drought stress treatment

To adjust the amount of pots watering in terms of the irrigation regimes of field capacity (95% considered as control treatment, 60% and 20% considered as dry treatments), the soil water content was continuously monitored and maintained by watering at 95%, 60% and 20% levels of field capacity during the experiment. Changes in the soil water of each pot were measured and checked daily by weighing each pot at the beginning and end of the removed plant. The total amount of water used was calculated as the difference between final and initial pot weight and the amount of water supplied to each pot. Plants were harvested at the flag leave stage.

The Morpho-physiological analysis

For determination of Relative Water Content (RW, fresh leaves were taken from each genotype and each replication at flag leaf stage and weighted immediately to record fresh weight (FW). Then they were placed in distilled water for 4 h and then weighted again to record turgid weight (TW), and subjected to oven drying at 70°C for 24 h to record dry weight (DW). (RWC) was determined according to the method adopted by Turner (1986): $RWC \% = [(FW - DW) / (TW - DW)] \times 100$. Chlorophyll content was assessed using a SPAD chlorophyll meter (Minolta crop, USA) before any measure, the device must be set (number of signal tower) and size (N = 0). In this protocol the rate of chlorophyll is estimated per unit SPAD. The leaf temperature (LT) was measured using a hand held infrared thermometer (IRT), the stomatal conductance was measured at mid-morning on the adaxial leaf surface with a hand-held porometer (AP4) which measured the stomatal resistance (rs), the stomatal conductance values (gs) were deduced from the ratio $1 / (rs)$.

in addition to the previous parameters, total leaf area (cm²) was measured according to Paul et al., (1979) and the specific leaf weight (SLW) was calculated by dividing the total leaf area by leaf dry weight (LDW/LA) (g m⁻²) according to (Lambrides et al., 2004).

WUE was calculated as total dry weight divided by total amount of transpiration according to (Qiao et al., 2010).The amount of water loss from the pots, weighed on daily basis, represented the transpiration.

Statistical analysis

To evaluate differences among the wheat genotypes in response to different water regimes, Data were subjected to an ANOVA analysis at the $P < 0.05$ significance level. Pearson's correlations among the studied parameters were tested using SPSS 22.0 software package.

Results

Water use efficiency and its components (WUE, TWC, TDM)

We observed a noticeable variation in the response of the wheat genotypes to the different water regimes imposed. Results in (Fig.1a) show that WUE increased under the two dry treatments (60%, 20%) compared to the control 95%. The variety Bous displayed the highest value of WUE for the treatment 20% field capacity (FC) with 14.66 mg/g.water followed by the variety GGR 11.48mg/g.water whereas the lowest values were registered by the varieties Cir, Rah and Bidi (3.05 3.08 and 3.09 mg/g.water) respectively. Data in Figure.1b showed a slight decrease in the total dry matter (TDM) accumulated for all the genotypes under both treatments 60% and 20%. Despite of the severity of the water regime imposed, some genotypes maintained high values of TDM, such as the variety Bous under the treatment 20% with (619.66mg), the same as Sim under 60% (690mg). Moreover, our results revealed a significant drop in the total water consumption (TWC) under the two regimes 60%, 20% compared to the control treatment, all the studied varieties decreased the amount of TWC under the dry treatments except the varieties Bous, GGR and Sim. The ANOVA Results (**Table 2**) show that for WUE and its compounds, the different genotypes displayed a significant difference in response to the water treatments ($P \leq 0.0001$).

The Morpho-physiological traits

Our study showed that RWC (relative water content) decreased under drought stress conditions, for the water regime 20 % FC, the highest reduction in RWC was obtained from the genotypes Cir and Bidi. Also, the highest RWC value was obtained from Bous cultivar under the same water regime (Fig.2.a). otherwise our results indicated that the studied genotypes were not very affected by the moderate dry treatment 60% FC. According to the data in (**Table 2**) RWC presents a highly significant difference between genotypes and the water treatment $P \leq 0.0001$.

The results of our study indicated that stomatal aperture was significantly affected by the dry treatments imposed. Data illustrated in (Fig 2.b) show that the cultivars Dk and Bidi presented the lowest values of (gs) for the water regime 20%, (0.06 and 0.07mmol m⁻²s⁻¹) respectively. The same was registered for the regime 60% FC, genotypes Dk, Bidi and Cirta exhibited the lowest values of (gs) (Fig 2.b). The ANOVA analysis presented a highly significant difference between genotypes $P \leq 0.0001$, water regimes and the interaction GXWR. (**Table2**).

Leaf temperature was positively influenced by the severity of the water regime imposed; we registered increased values for all the studied genotypes under the two regimes 60% and 20% comparing to the control (Fig 2.c). The difference among genotypes and the water treatments was highly significant $P \leq 0.0001$ as shown in (**Table2**). In addition, our results revealed that there was a significant effect of drought conditions on the chlorophyll content (SPAD Index) in all genotypes. The chlorophyll content decreased under the two water regimes 60% and 20% as shown in (Figure 2.d) and it presents highly significant differences among genotypes, water regimes and the interaction with $P \leq 0.0001$ (**Table2**).

Moreover, the water regimes imposed had a significant effect on the morphological studied traits, Leaf area (LA) decreased for all the genotypes under the dry treatments compared to the Control (**Fig.3a**) except for the genotype Bous which maintained the highest leaf area for both dry treatments (18.01 cm²). Leaf area results showed highly significant differences among genotypes and the water treatments $P \leq 0.0001$ (**Table 2**). The ANOVA analysis revealed that the effect of the applied water regimes on specific leaf weight (SLW) varied among genotypes, the varieties Cir, Rah and Bidi registered a significant increase in the SLW for the treatment 20% FC (Fig.3.b), in contrast to the varieties W, MBB, Dk, Bous, GGR, Sim which presented almost the same values of SLW for both dry treatments. The results showed that there was a highly significant difference between genotypes and the water regimes $P \leq 0.0001$ (Table2)

Correlations among the studied parameters

The correlation analysis revealed parameters strongly linked to WUE under both dry treatments. WUE was negatively correlated with total water consumption TWC ($r = -0.88^{**}$ for 60% FC and $r = -0.69^{**}$ for 20%FC), stomata conductance gs ($r = -0.42^*$ for 60%FC and $r = -0.68^{**}$ for 20% FC), and leaf temperature ($r = -0.52^{**}$ for 60%FC and $r = -0.53^{**}$ for 20% FC). A marked positive correlation was found between WUE and TDM under both dry treatment ($r = 0.63$ for 60% FC and $r = 0.90^{**}$ for 20% FC). Under the dry treatment 20% FC we registered a significant positive correlation between WUE and LA and between WUE and RWC ($r = 0.72^{**}$, $r = 0.47^{**}$ respectively). These results are shown in Table 3. Data illustrated in Fig 4(A and B) reveals that TDM, TWC and LA are strongly linked to WUE under the dry treatment 20% FC.

Table1. Origin of the studied genotypes

Genotype	Code	Origin
Waha	W	CIMMYT-Mexico cross, released by ICARDA Syria and Algeria
Cirta	Cir	ITGC Constantine ,Algeria
Beliouni	BEL	Algeria
Bidi 17	Bidi	Algeria
Guemgoum Rkhem	GGR	Algeria
Mohamed Ben Bachir	MBB	Hauts plateaux Est, Algeria.
Djennah Khetifa	Dk	Alegria/Tunisia
Simeto	Sim	Italy
Bousselam	Bous	ITGC Setif, Algeria
Rahouia	RAH	TIARET ,Algeria

Table 2. Variance analysis for all measured parameters of ten wheat genotypes subjected to three water regimes 95 %, 60% and 20%

Variance Source	df	TDM	WUE	TWC
Genotypes G	9	113998,989 ***	62,632 ***	116019,2 ***
Water Regimes WR	2	611040,811 ***	169,023 ***	1516176 ***
Interaction (GxWR)	18	8005,774 Ns	5,179 ***	58335,044 ***
Variance Source	df	RWC	g(s)	LT
Genotypes G	9	505,454 ***	0,052 ***	70,164 ***
Water Regimes WR	2	1595,472 ***	0,398 ***	243,709 ***
Interaction (GxWR)	18	48,753 **	0,008 ***	2,126 ns
Variance Source	df	SPAD	LA	SLW
Genotypes G	9	79,441 ***	52,236 ***	54,123 ***
Water Regimes WR	2	253,654 ***	213,434 ***	98,121 ***
Interaction (GxWR)	18	4,021 *	2,828 ns	13,17 ***

Values are mean square. *(P<0.05), ** (P<0.01), *** (P<0.0001).

(RWC)Relative Water Content %, g(s) Stomatal Conductance, (LT) Leaf Temperature,(LA) Leaf Area, (SLW) Specific Leaf Weight, (TDM) Total Dry Matter, (WUE) Water Use Efficiency, (TWC) Total Water Consumption.

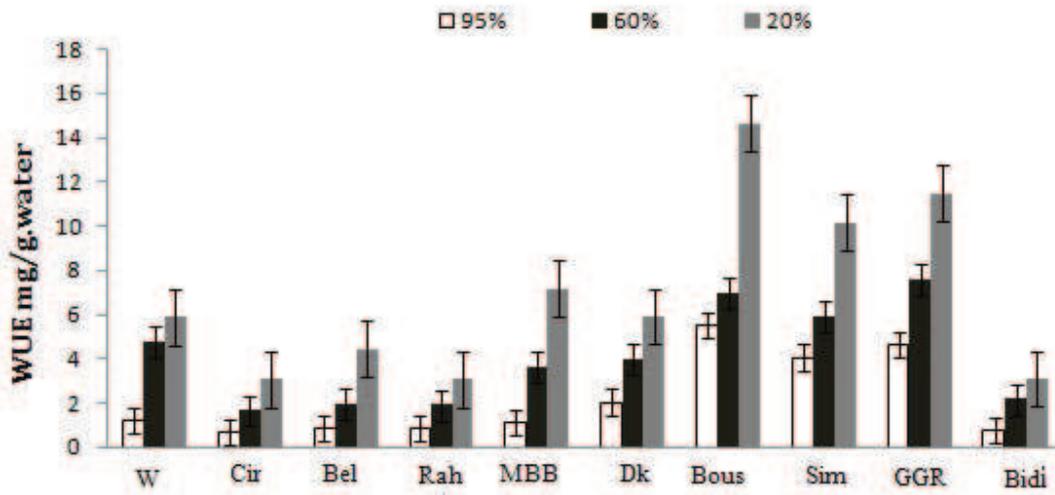
Table 3. Pearson's correlation among the studied parameters of ten durum wheat genotypes under two different dry treatments

Correlation coefficients at 60% field capacity									
	WUE	TWC	gs	TDM	LT°	SPAD Index	LA	SLW	RWC
WUE	1	-,885**	-0,42*	,636**	-,526**	-0,027	0,338	-,488**	0,046
TWC		1	-,372*	-,452*	,531**	0,032	-0,35	,370*	0,018
g(s)			1	,607**	-0,204	-0,255	,468**	-0,216	,494**
TDM				1	-,580**	-0,106	,442*	-,639**	,567**
LT°					1	0,316	-0,235	,393*	-,408*
SPAD Index						1	-0,147	-0,091	-,587**
LA							1	-,638**	,440*
SLW								1	-0,258
RWC									1

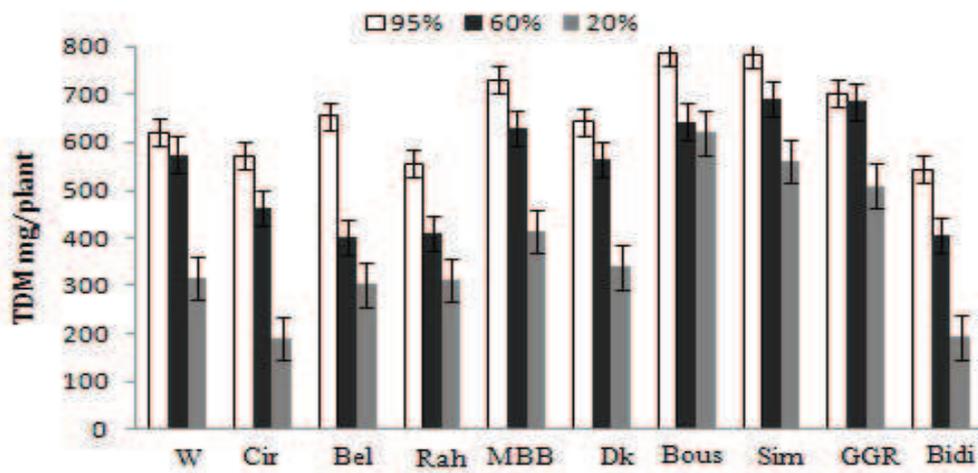
Correlation coefficients at 20% field capacity									
	WUE	TWC	gs	TDM	LT°	SPAD Index	LA	SLW	RWC
WUE	1	-,690**	-,682**	,901**	-,532**	,363*	,729**	-,599**	,479**
TWC		1	-,483**	-,391*	,533**	-,650**	-,494**	,632**	-0,29
Gs			1	,693**	-,410*	0,351	0,305	-,506**	,475**
TDM				1	-,457*	0,136	,622**	-,552**	,465**
LT°					1	-0,099	-,426*	,831**	-0,249
SPAD index						1	0,204	-0,305	0,136
LA							1	-,463**	,367*
SLW								1	-,378*
RWC									1

** .The correlation is significant at the 0.01 level (bilateral).

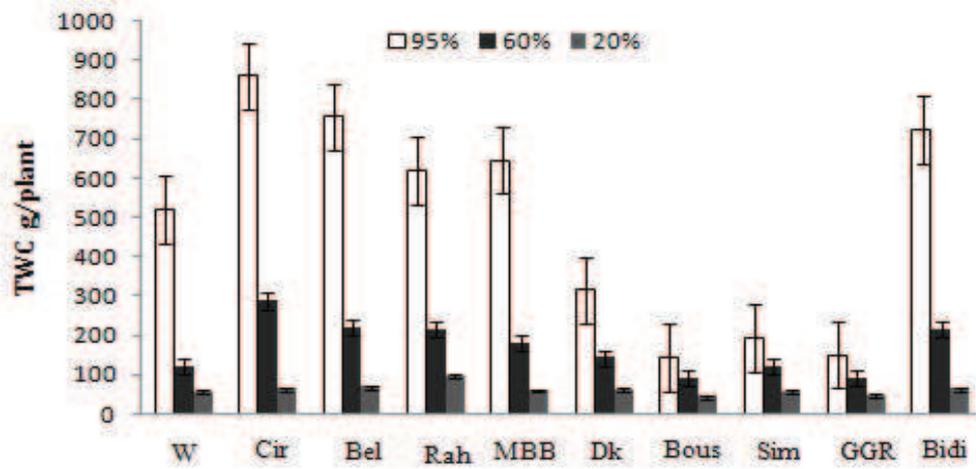
*.The correlation is significant at the 0.05 level (bilateral).



a)

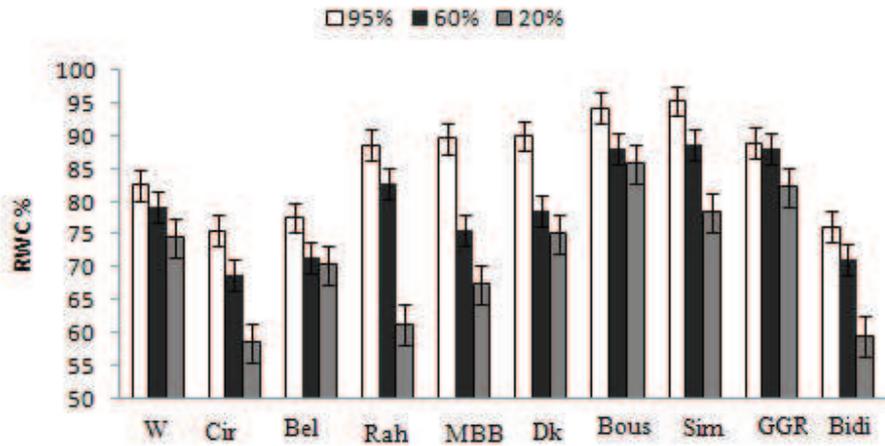


b)

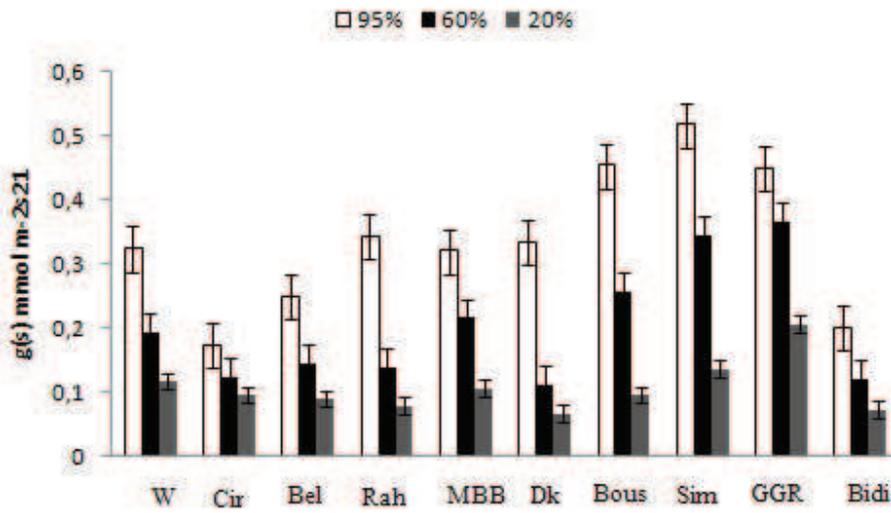


c)

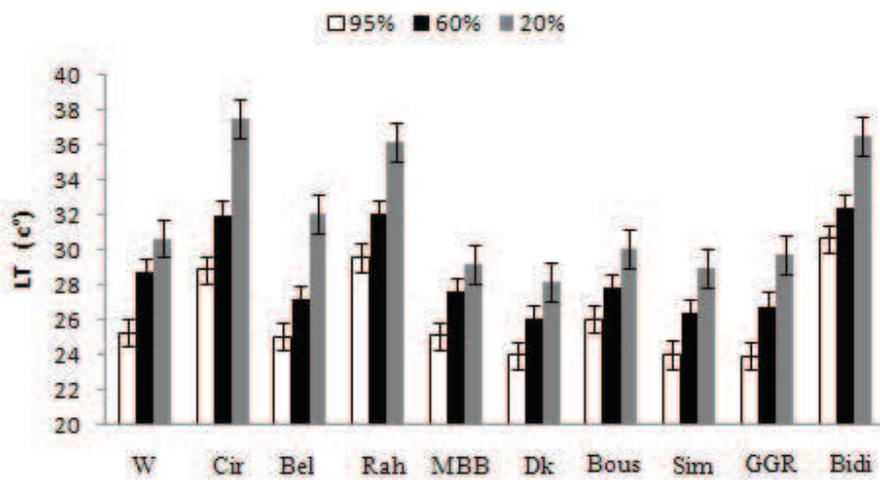
Figure1. (a) Water use efficiency (mg/MS/plant), (b) Total dry Matter, (c) Total water consumption of ten wheat genotypes under different water regimes.



a)



b)



c)

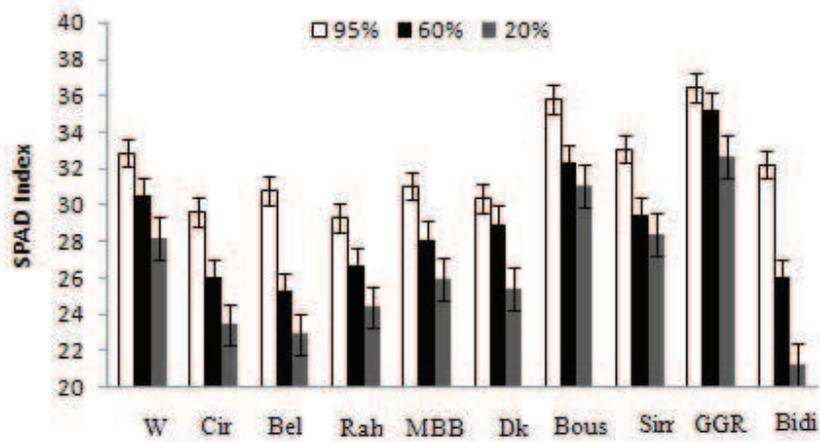


Figure 2. a).Relative water content (RWC), b).Stomatal conductance (gs), c).Leaf Temperature (LT) and d).SPAD index of ten wheat genotypes under different water regimes.

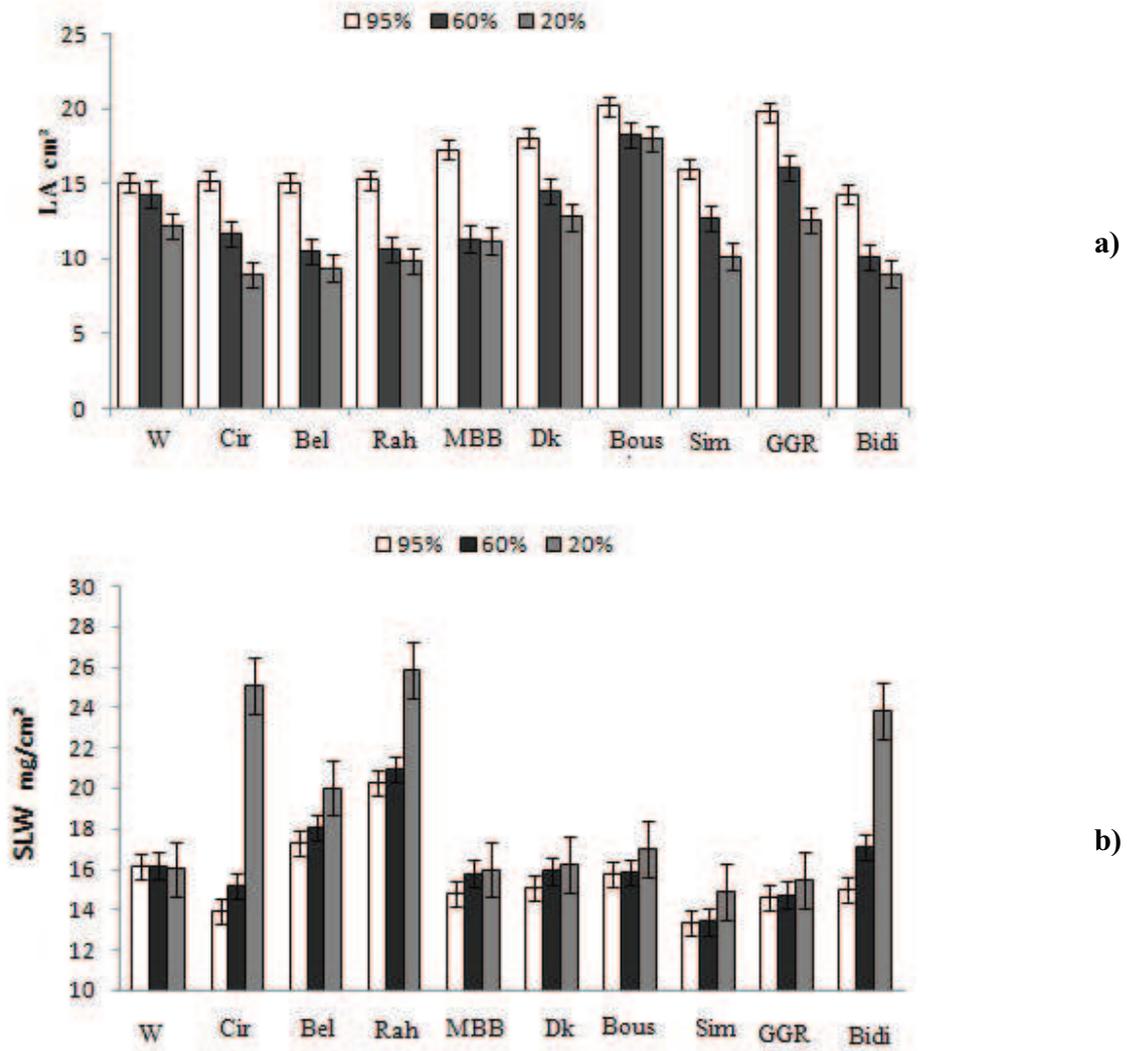
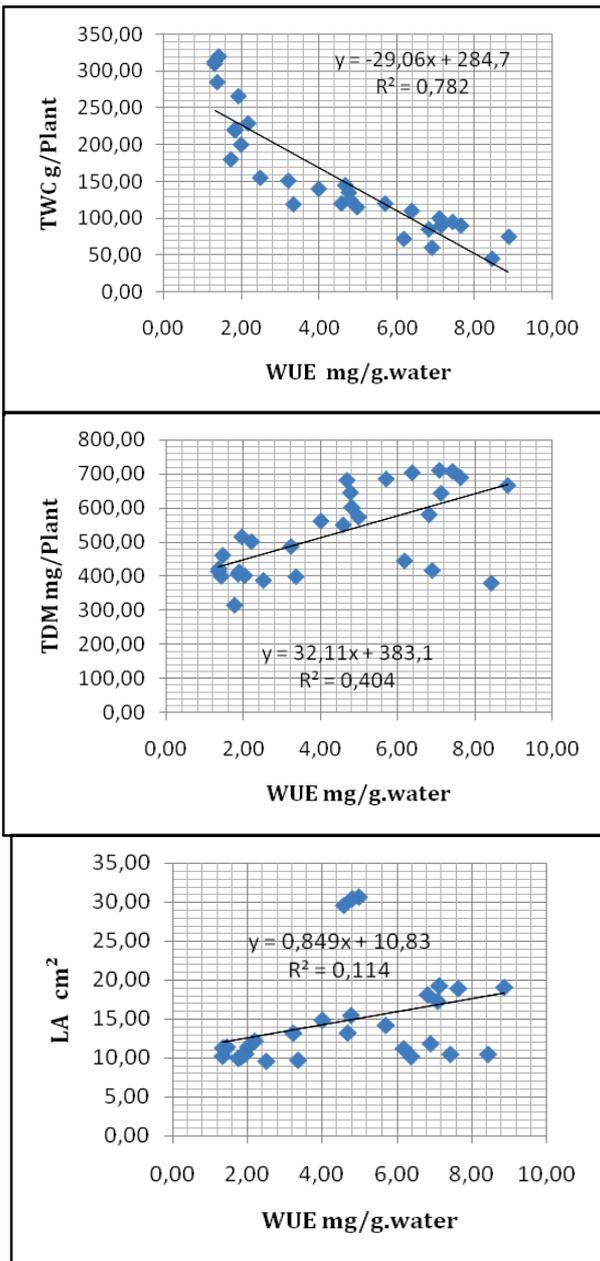
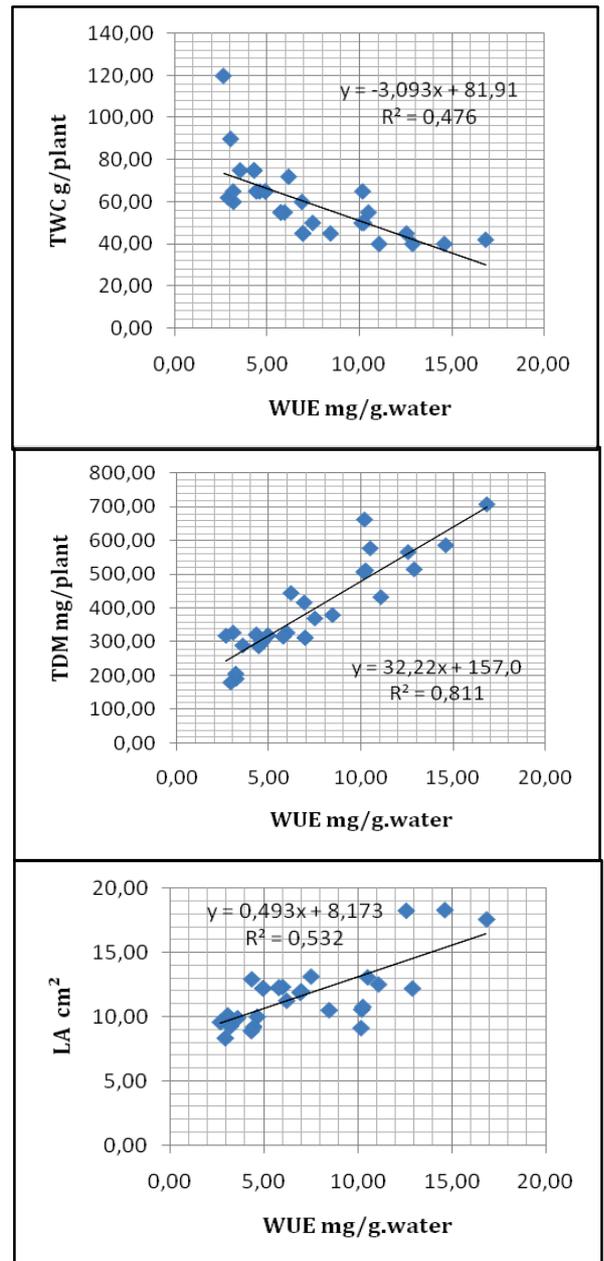


Figure 3.Effect of different water regimes 95%, 60% and 20% on a).Leaf Area cm², b).Specific Leaf Weight SLW g/cm² of ten wheat genotypes.



A)



B)

Figure 4 .Relationship between WUE and Total water Consumption (TWC), Total Dry Matter (TDM) and Leaf Area (LA) of ten wheat genotypes A) under 60% Filed capacity regime, B) under 20% Filed capacity regime .

Discussions

Our goal was to impose drought conditions similar to those found in agricultural settings that cause reductions in seed yield (**Christine et al., 2012 and Jones, 2007**). We found that drought stress affected the water use efficiency components; we registered a significant decrease in Total water consumption (TWC) and total dry matter (TDM) for the water regime 20%. In our study, we found that WUE increase across water treatments, the obtained results showed a genotypic variation for the wheat genotypes in response to the water regimes imposed for WUE and its components (**Fig.1**). The studied genotypes registered a slight decrease in TDM across the water regimes, this decrease in TDM for wheat cultivars has been reported by many authors (**Ykhlef et al., 1998**) and (**Changhai et al., 2010**). Likewise, the correlation analysis revealed a positive significant correlation between WUE and TDM under drought conditions (**Table.3, Fig.4A and 4B**), the same results were obtained by (**Alirezan and Farshad, 2013**).

Ykhlef et al (1998) reported that water use efficiency increase with the intensity of the water stress and it affects the most water consumption more than dry mass accumulated which was in agreement with our study. For the water regime 20%, all wheat genotypes showed a considerable decrease in TWC under water stress conditions and maintained high values of TDM and WUE (**Fig.1.a, b,c**). Moreover the applied water regimes had a significant effect on water consumption and stomata conductance which decrease dramatically under drought (**Fig1.c and Fig2.b**) This decrease of $g(s)$ has been mentioned by many authors (**Ykhlef and Djekoun., 2000, Baloch et al., 2012., Hamla et al 2014**). According to the simple correlation analysis, total water consumption TWC and stomata conductance were negatively correlated with WUE under drought stress treatments (**Table.3, fig.4 A and B**). Our results are in good agreement with the results of (**Xiao-li1 et al., 2012**) and support the findings of the pervious results done by (**Bhagsari 1986; Johnson 1993; Cowan 1997; Zhanget al. 2005; Zhao et al. 2006; Yu et al. 2008 and Xiao-li1 et al., 2012**), who found that increasing of leaf WUE was due to the reduction of transpiration and an increase in photosynthesis. Furthermore, it has been reported by (**Baker et al., 2007; Sharkey et al., 2007; Tambussiet al., 2007 and Xiao-li1 et al., 2012**) that reductions in $g(s)$ and transpiration were parallelly accompanied only by reductions in (C_i) intercellular CO_2 concentration resulted in increasing water use efficiency, this was mainly due to plant rapidly adjusting water loss through transpiration and absorption of CO_2 through stomatal regulation thereby resulting in increased water use efficiency.

Our results revealed a decrease in the relative water content (RWC) in response to drought stress which has been reported by Nayyar and Gupta (2006) that when leaves are subjected to drought, leaves exhibit large reductions in RWC. It has been also reported in previous investigations done by (**El Tayeb, 2006**) and (**Geravandia, 2011**) that drought tolerant genotypes showed the higher RWC rather than drought sensitive genotypes. Moreover, our data analysis indicated a positive correlation between WUE and RWC under water stress conditions (Table.3), the same results were reported by (**Ykhlef et al., 1998**). Likewise, drought affects wheat leaves by increasing leaf temperature as has been reported by (**Hamla, 2014**) which was in accordance with our results, all wheat genotypes showed increased values of LT under drought condition. Moreover, change in leaf temperature may be an important factor in controlling leaf water status under drought stress, drought-tolerant species maintain water-use efficiency by reducing the water loss (**Shakeel, 2011**) which was in good agreement with our results; genotypes exhibiting low values of LT maintained high WUE under drought condition (**fig 1.a and 2.c**). The negative correlation between WUE and LT was not significant (**Table.3**), similar results were found by (**Zaho el al., 2006**) and (**Xiao-li1, et al., 2012**).

The variation of chlorophyll content in leaves under different levels of water regimes provides information about the behavior of genotypes towards water efficiency (**Bousbaet al., 2009**). In the present study, chlorophyll content of durum wheat leaves dropped across the water regimes (**Fig.2d**). Our results supported the findings of other authors (**Bousba, 2012; Izabela et al., 2013; Hamla, 2014**) and (**Gao et al., 2004**) who showed that a lack of water leads to a drop of chlorophyll in the leaves. Studies have shown that, more tolerant wheat varieties tend to keep higher relative water content and higher chlorophyll content (**Parwata et al., 2012**). In addition to the previous parameters, leaf area of wheat genotypes was also induced by drought stress, LA decreased across the water regimes. Boutraa (2010) reported that according to the study of Lu et al. (1998) the impact of water stress on leaf growth can be explained as a method of adaptation to the conditions of water shortage to limit the rate of transpiration in order to maintain the water supply in the soil around plant roots to increase the chance of survival of the plant (**Passioura, 2002**). The mechanism, by which plant leaf area is reduced under water stress, is through the reduction of cell elongation, which leads to the reduction of cell size and therefore the reduction of leaf area (**Schuppler, 1998**). In the present study, results revealed a significant positive correlation between WUE and leaf area under the dry treatments : ($r = 0.49^{**}$ for 60%FC; $r = 0.729^{**}$ for 20%FC) (**Fig 4 A and B**). The association of high WUE with high LA is in accordance with results of Boogaard (1997) who reported that a greater investment in leaf area was associated with higher water-use efficiency at the plant level as well as at the leaf level which was the case of our study. In fact, Boogaard (1997)

suggested that the correlation of high water-use efficiency with a high leaf area is promising and should be further tested under field conditions.

Our results revealed that specific leaf weight (SLW) increase across the water regimes applied and presented variation among the studied genotypes (Fig.3.b), Furthermore, SLW had a positive correlation with WUE under the water stress treatments as shown in (Table.3). These results support the findings of Ykhlef (1998). Drought stress was found to have caused an increase in SLW in almost all studies, increases in SLW under drought conditions have also been reported in durum wheat (Ykhlef,1998) and in some fruit trees such as peaches (Martinez, 2010), wild almond (Mohammadreza,2014).

Conclusions

The aim of our work was to study the response of ten wheat genotypes to different water regimes and to investigate the relationship between WUE and the morpho-physiological studied traits. The obtained results indicated a genotypic variation between varieties in response to the applied water treatments. This variation is due to the different morpho-physiological mechanisms developed by the cultivars to overcome the water stress conditions. In addition, the correlation analysis revealed a significant relationship between WUE and the studied parameters such as TWC and (gs) which are considered as the most important traits to regard while studying WUE, Furthermore, the significant positive correlation between leaf area and WUE could be an important result to consider in further studies and should be confirmed in field conditions. Thus, these traits may be considered as morpho-physiological markers of WUE under drought conditions. Moreover, our findings may suggest tolerant genotypes such as Bous, GGR and Sim which presented high values of Water use efficiency (WUE), Total Dry Matter (TDM) and chlorophyll content, relative water content (RWC), as well as high values of leaf area and specific leaf weight under drought stress conditions. Likewise, these genotypes presented less values of TWC and could be suggested as less water consumer genotypes under water limited conditions.

Acknowledgements

Authors are grateful to the ITGC (Institut Technique des Grandes Cultures) especially to Dr.Benbelkacem.A for providing the wheat seeds .We also wish to thank Dr. Clair.P and Mr.Slimani.F for their interest to the data analysis and Mr.Belbekri N, Ryma B for their technical assistance.

References

- Alireza, E., Farshad, H.(2013). Water Use Efficiency Variation and Its Components in Wheat Cultivars.American .Journal of Experimental Agriculture. 3(4): 718-730.
- Baker, N. R., Harbinson, J., Kramer, D. M. (2007).Determining the limitations and regulation of photosynthetic energy transduction in leaves. Plant, Cell and Environment. 30: 1107-1125.
- Baloch, M. J., Dunwell, J., Khan, N. U., Khakwani, A .A., Dennett, M., and Jatoi, W. A .(2012). Profiling dehydrin gene sequence and physiological parameters in drought tolerant and susceptible spring wheat cultivars.Pakistan Journal of Botany. 44(2): 801-806.
- Bhagsari, A. S., Brown, R. H.(1986). Leaf photosynthesis and its correlation with leaf area.Crop Science.26: 127- 132.
- Bousba, R., Ykhlef, N ., Djekoun, A.(2009). Water use efficiency and flag leaf photosynthetic in response to water deficit of durum wheat (*Triticum durum* Desf,World. journal of agricultural sciences. 5(5):609-6016,2009.
- Bousba, R., Djekoun,A .,Ykhlef,N.(2012). Protective enzyme system and osmoprotection in durum wheat (*Triticum durum*.Desf.)leaves under water deficit. International Journal of Management Sciences and Business Research, 2012, Vol. 1, Issue 12. (ISSN: 2226-8235).
- Boogaard, R.V.D., Alewijnse,D., Venekelaas, E.J., and Lambres .H.(1997).Growth and water-use efficiency of 10 *Triticumaestivum* cultivars at different water availability in relation to allocation of biomass. Plant, Cell and Environment .20:200-210.
- Boutraa, T., Akhka, A., Abdulkhaliq, A., Al-Shoaibiand, A., Alhejeli,M.(2010). Effect of water stress on growth and water use efficiency (WUE) of some wheat cultivars (*Triticum durum*) grown in Saudi Arabia. Journal of Taibah University for Science, JTUSCI 3:39-48 . ISSN: 1658-3655.
- Changhai,S., Baodi,D., Yunzhou,Q., Yuxin,L., Lei,S., Mengyu,L., Haipei,L.(2010). Physiological regulation of high transpiration efficiency in winter wheat under drought conditions. PLANT SOIL ENVIRON. 56, 2010. (7): 340–347.

- Christine, E., Edwards, Brent, E., Ewers, C., Robertson, Mc-C., Ping, L., Cynthia, W.(2012). Quantitative Variation in Water-Use Efficiency cross Water Regimes and Its Relationship with Circadian, Vegetative, Reproductive, and Leaf Gas-Exchange Traits,2012.Molecular Plant Advance Pages 1–16, 2012.
- Condon, A. G., Richards, R. A., Rebetzke, G. J., Farquhar, G. D.(2002). Improving intrinsic water-use efficiency and crop yield. *Crop Science* 42: 122-131.
- Cowan, I. R, 1977. Stomata behavior and environment.*Advances in Botanical Research*. 4: 117-228.
- El Tayeb, M.A.(2006). Differential Response of Two *Vicia faba* Cultivars to Drought: Growth, Pigments, Lipid, Peroxidation, Organic Solutes, Catalase, and Peroxidase Activity. *Acta Agron Hung.* vol 54: 25– 37.
- Gao, S.J., Wang, W.J., Guo,T.C.(2004).C-N metabolic characteristics in flag leaf and starch accumulating developments in seed during grain filling stage in two winter wheat cultivars with different spike type, *Acta Agron. Sin.* 29 (3) (2004) 427–431.
- Geravandia, M.,Farshadfar, E., and Kahrizia, D.(2011). Evaluation of Some Physiological Traits as Indicators of Drought Tolerance in Bread Wheat Genotypes1.ISSN 10214437. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2011, Vol. 58, No. 1, pp. 69–75.
- Hamla, C., Brini, F., Ayadi, M., Masmoudi, K., Djekoun, A., Ykhlef, N.(2014). Drought stress response in two Algerian durum wheat genotypes: physiological and molecular analysis of two stress responsive genes. *International Journal of Advanced Research* (2014) Volume 2 Issue. 10: 330-338.
- Izabela, M., Ilona, C-M. , Edyta, S , Maria, F. ,Stanisław, G. , Maciej, T. G. , Franciszek, J. , Tomasz, H. ,Michał, D., Kinga, D. ,Agata, N. ,Steve ,A Q.(2013). Impact of osmotic stress on physiological and biochemical characteristics in drought-susceptible and drought-resistant wheat genotypes.*Acta Physiol Plant* (2013): 35:451.
- Johnson, K. H.(1993). Growth and ecophysiological responses of black spruce seedlings to elevated CO₂ under varied water and nutrient additions. *Canadian Journal of Forest Research*. 23: 1033-1042.
- Jones, H.G.(2007).Monitoring plant and soil water status: established and novel methods revisited and their relevance to studies of drought tolerance. *J. Exp. Bot.* 58: 119–130.
- Lambrides, C.J., Chapman, S.C., Shorter, R.(2004). Surveys of carbon isotope discrimination in sunflower reveal considerable genetic variation, a strong association with transpiration efficiency and evidence of cytoplasmic inheritance.*Crop Sci.* 44: 1642–1653.
- Lu, Z. and Neumann, P.M.(1998). Water-stressed maize, barley and rice seedlings show species diversity in mechanisms of leaf growth inhibition *Exp. Bot.* 49: 1945–1952.
- Martinez, X.D, 2010. Effects of Irrigation and Nitrogen Application on Vegetative Growth, Yield and Fruit Quality in Peaches (*Prunus persica* L. Batsch Cv. Andross) for Processing. Lleida University, Spain, PhD thesis.
- Medrano, H., Magdalena T., Martorell, S., Flexas, J., Hernández, E., Rosselló, J., Pou, A., Mariano J-E., Bota, J.(2015). From leaf to whole-plant water use efficiency (WUE) in complex canopies: Limitations of leaf WUE as a selection target. *The Crop Journal* 3(2015) 220-228.
- McNaughton, K .G., Jarvis, P. G.(1991). Effects of spatial scale on stomatal control of transpiration.*Agricultural and Forest Meteorology*. 54:279-301.
- Mohammadreza, Z-K., Mahmoud, E-A, Ahmad, E., Ali, I.(2014). Morphological Changes in Response to Drought Stress in Cultivated and Wild Almond Species. *International Journal of Horticultural Science and Technology* Vol. 1, No. 1 June 2014, pp 79-92.
- Nayyar, H., Gupta, D .(2006). Differential sensitivity of C3 and C4 plants to water deficit stress: association with oxidative stress and antioxidants. *Environ. Exp. Bot.* 58: 106-113.
- Öner, C., Götz, K-P., Ellmer, F., Chmielewski, F-M., Kaynak, M.A.(2014). Determination of the relationship between water use efficiency, carbon isotope discrimination and proline in sunflower genotypes under drought stress. *Australian journal of crop science*. AJCS 8(2):232-242.
- Passioura, J.B.(2002). Soil conditions and plant growth.*Plant, Cell and environment* 25,311-318.
- Parwata, I. I., D, Yudono., P, Kertonegoro., B. D, Kusmarwiyah, R .(2012). Physiological responses of *Jatropha* to drought stress in Coastal Sandy Land condition. *Makara J Sci*, 16(2), 115-121.
- Passioura, J.B.(1986). Resistance to drought and salinity: Avenues for improvement. *Aust J Plant Physiol.* 13: 191-201.
- Paul, M.H., Planchton, C and 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.

- Qiao, Y. Zhang, H., Dong, B., Shi, C., Li, Y., Zhai, H., Liu, M. (2010). Effects of elevated CO₂ concentration on growth and water use efficiency of winter wheat under two soil water regimes *Agricultural Water Management*, 2010, vol. 97, issue 11, pages 1742-1748.
- Rauf, S. (2008). Breeding sunflower (*Helianthus annuus* L) for drought tolerance. *Commun Biometry Crop Sci.* 3: 29–44.
- Rucker, K.S., Kvien, C.K., Holbrook, C.C., Hook, J.E. (1995). Identification of peanut genotypes with improved drought avoidance traits. *Peanut Sci.* 24: 14-18.
- Reyazul, R. M., Mainassara, Z-A., Sreenivasulu, N., Richard, T., Rajeev K., Varshney. (2012). Integrated genomics, physiology and breeding approaches for improving drought tolerance in crops. *Theor Appl Genet* (2012) 125:625–645.
- Sankar, B., Abdul Jaleel, C., Manivannan, P., Kishorekumar, A., Somasundaram, R., Panneerselvam, R. (2008). Relative efficacy of water use in five varieties of *Abelmoschus esculentus* (L) Moench. under water-limited conditions. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. Volume 62, Issue 1, Pages 125–129.
- Schuppler, U., Ping Hua, H., Peter, C. L. J and Munns, R. (1998). Effect of water stress on cell division like cell and cell division cycle 2 like cell cycle kinase activity in wheat leaves. *Plant Physiol.* 117:167-678.
- Shakeel, A. A., Xiao-yu, X., Long-chang W., Saleem, M.F., Chen, M., and Wang, L. (2011). Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *African Journal of Agricultural Research* Vol. 6(9), pp. 2026-2032, 4 May, 2011. DOI: 10.5897/AJAR10.027.
- Sharkey, T. D., Carl, J. B., Graham, D. F., Singaas, E. L. (2007). Fitting photosynthetic carbon dioxide response curves for C₃ leaves. *Plant, Cell and Environment*. 30: 1035- 1040.
- Sinclair, T.R., Ludlow, M.M. (1986). Influence of soil water supply on the plant water balance of four tropical grain legumes. *Aust J Plant Physiol.* 13: 329–341.
- Tambussi, E. A., Bort, J., Araus, J. L. (2007). Water use efficiency in C₃ cereals under Mediterranean conditions: a review of physiological aspects. *Annals of Applied Biology*, 150: 307-321.
- Toker, C., Canci, H., Yildirim, T. (2007). Evaluation of perennial wild *Cicer* species for drought resistance. *Genet Resour Crop Evol.* 54:1781–1786.
- Turner, N. C. (1986). Crop Water Deficit: A Decade of Progress, *Adv. Agron.*, 1986, vol. 39, pp. 1–51.
- Xiao-li, W.U., Wei-kai, B. (2012). Statistical Analysis of Leaf Water Use Efficiency and Physiology Traits of Winter Wheat under Drought Condition, *Journal of Integrative Agriculture* .11(1): 82-89.
- Ykhlef, N., and Djekoun, A. (2000). Adaptation photosynthétique et résistance à la sécheresse chez le blé dur (*Triticum turgidum* L. var. durum): Analyse de la variabilité génotypique. *Options Mediterr.* 40 : 327-330.
- Ykhlef, N., Djekoun, A., Bensari, M. (1998). l'efficacité de l'utilisation de l'eau : Marqueur physiologique de la résistance à la sécheresse chez le blé dur *Triticum Durum* Desf. *Sciences & Technologie*, pp 87-92.
- Yu, X. F., Gao, J. L., Song, G. D., Feng, Y., Zhao, R. X., Sun, F. C., Wang, Z. G, Li, L. J. (2008). The study on water use efficiency and concerned traits of maize inbred lines leaves. *Journal of Maize Sciences.* 16: 64-69.
- Zhang, J., Zhang, Z. B., Xie, H. M., Dong, B. D, Hu, M. Y., Xu, P. (2005). The relationship between water use efficiency and related physiological traits in wheat leaves. *Acta Agronomica Sinica.* 31: 1593-1599.
- Zhao, T.J., Sun, S., Liu, Y., Liu, J.M., Liu, Q., Yan, Y.B., Zhou, H.M. (2006). Regulating the drought-responsive element (DRE)-mediated signaling pathway by synergic functions of trans-active and trans-inactive DRE binding factors in *Brassica napus*. *J. Biol. Chem.* 281: 10752-10759.

Résumés des communications

Bentahar Soumia, Hamla Chourouk & Ykhlef, N. (2011). Étude de la variation génotypique chez le blé dur et des protéiques associés à la tolérance au stress hydrique 1^{er} Congrès international « aide à l'agriculture Algérienne du 22 au 24 Novembre 2011 à Annaba.

Etude de la Variation génotypique chez le blé dur et des marqueurs protéiques associés à la tolérance au stress hydrique

BENTAHAR.Soumia,HAMLA.Chourouk, YKHLEF.Nadia

Laboratoire de Génétique de Biochimie et de Biotechnologie Végétale, Equipe de Biotechnologie Végétale et Amélioration des Plantes, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Département de Biologie et Ecologie, Université des frères Mentouri -Constantine - Algérie

Soumia_bentahar@yahoo.fr

Afin d'étudier la variation génotypique chez le blé dur pour des marqueurs protéiques, un essai sous serre a été mené en conditions semi-contrôlées. Six variétés de blé dur *Triticum durum* Desf ont été exposées à un stress hydrique de cinq jours par un arrêt d'arrosage, pour les plantes témoins on a maintenu une irrigation optimale. Dans le but d'étudier la réponse des six variétés utilisées ainsi que les marqueurs protéiques associés à la tolérance au stress hydrique on s'est basé sur l'étude des marqueurs biochimiques tel que l'analyse des protéines totales par (SDS-PAGE) L'analyse électrophorétique portée sur les feuilles a révélé 31bandes protéiques avec un poids moléculaire allant de 14à 99 KDa, ces protéines sont probablement des protéines appartenant à la famille des déhydrines qui ont un poids moléculaire qui varie entre 9 -200KDa. Parmi les bandes révélées on a noté les deux bandes 20,32 KDa qui étaient présentes chez toutes les variétés stressées et inhibées chez les variétés témoins. Une variation génotypique était observée par rapport au total de bandes révélées chez les plantes

Mots clé : *blé dur, tolérance au stress hydrique, SDS –PAGE, marqueurs protéiques,déhydrines.*

Bentahar Soumia & Ykhlef, N. (2013). Water Use Efficiency in Durum wheat: Study of physiological and molecular mechanisms (protein Aquaporins) defining an ideotype. Les 1ère doctoriales de l'Université de Constantine 1. Mars 2-7.

Water Use Efficiency in Durum wheat: Study of physiological and molecular mechanisms (protein Aquaporins) defining an ideotype.

BENTAHAR.Soumia¹, &YKHLEF.Nadia¹

¹ *Laboratoire de Biochimie, Génétique et Biotechnologie Végétale, Université Constantine 1, Route AinEl Bey , Constantine, Algérie*

Soumia_bentahar@yahoo.fr

Water is the main factor limiting plant productivity, especially in the Mediterranean regions. Continuous climate change is mainly characterized by a decrease in water availability and an increase in temperature, in these regions there is an urgent need to increase the efficiency of water use by conserving Water lost through perspiration as well as the water lost in the agricultural sector. In order to define an ideotype of wheat with good water use efficiency we will study the physiological and molecular mechanisms involved in the efficiency of water use in durum wheat. Our problematic is to develop an integrated approach to the physiology of wheat in the face of variations in water availability. This issue will be tackled through two disciplines: physiology and molecular biology. The objective is to determine physiological traits and protein markers (aquaporins) linked to the efficiency of water use and drought tolerance under water deficit conditions. The first part was devoted to a physiological and morphological analysis of the response of ten genotypes of durum wheat subjected to three different water regimes (95%, 60% and 20%). The second part will be devoted to a biochemical and molecular analysis of the proteins synthesized during water stress focusing on the role of "Aquaporines" in the regulation and the modulation of the water status of the plant. For this purpose, molecular biology and proteomics techniques such as quantitative PCR will be used .A statistical analysis of the collected data will be the last part of our research and that in order to define an ideotype of durum wheat for well-defined physiological and molecular characteristics.

Key words: Water use efficiency, durum wheat, aquaporins

Bentahar Soumia & Ykhlef, N. (2013). Efficience de l'utilisation de l'eau chez le blé dur Etude des mécanismes physiologiques et moléculaires (Protéines Aquaporines) : Définition d'ideotype. Journées Scientifiques 2013 : Biotechnologie Végétale Maitrise et Application. Université Constantine 1, Mai 14-15.

Efficience de l'utilisation de l'eau chez le blé dur : Etude des mécanismes physiologiques et moléculaires (Protéines Aquaporines) : Définition d'ideotype
BENTAHAR.Soumia¹, DJEKOUN Abdelhafid¹ & YKHLEF.Nadia¹

¹ *Laboratoire de Biochimie, Génétique et Biotechnologie Végétale, Université Constantine 1, Route AinEl Bey, Constantine, Algérie*

Soumia_bentahar@yahoo.fr

Résumé

L'eau est le principal facteur limitant la productivité végétale notamment dans les régions méditerranéennes. Les changements continus du climat se caractérisent principalement par une diminution de la disponibilité de l'eau et un accroissement de la température, dans ces régions là il ya un besoin urgent d'accroître l'efficacité de l'utilisation de l'eau en conservant l'eau perdue par la transpiration ainsi que l'eau perdue dans le secteur de l'agriculture. Dans le but de définir un ideotype de blé ayant une bonne efficience de l'utilisation de l'eau, notre travail portera sur l'étude des mécanismes physiologiques et moléculaires impliqués dans l'efficience de l'utilisation de l'eau chez le blé dur. Notre problématique est de développer une approche intégrée de la physiologie du blé face à des variations de disponibilité en eau. Cette problématique sera abordée au travers deux disciplines la physiologie et la biologie moléculaire. L'objectif consiste à déterminer des caractères physiologiques et des marqueurs protéiques (Aquaporines) et des gènes liés à l'efficience de l'utilisation de l'eau et à la tolérance aux conditions de déficit hydrique. La première partie a été consacré a une étude morpho-physiologique de la réponse de dix génotypes de blé dur soumis à trois régimes hydriques différents (95%,60% et 20%). La deuxième partie va être consacrée à une analyse biochimique et moléculaire des protéines synthétisées lors d'un stress hydrique en mettant l'accent sur les protéines dite « Aquaporines » qui jouent un rôle important dans la régulation et la modulation de l'état hydrique de la plante. Pour ce faire on fait appelle aux techniques de biologie moléculaire et de protéomique. Une étude statistique des résultats obtenus fait objet de la dernière étape de la thématique de recherche à fin de définir un blé ideotype pour des caractères physiologiques et moléculaires bien définis.

Mots clés : efficience de l'utilisation de l'eau, mécanismes, Aquaporines, blé dur, ideotype.

Bentahar,S & Ykhlef, N. (2014). Efficience de l'utilisation de l'eau chez le blé dur : Mécanismes physiologiques et moléculaires (protéines Aquaporines) Définition d'un ideotype . Les 2^{èmes} doctoriales de l'Université de Constantine 1. Du 26 au 30 Avril à l'Université Constantine 1. Lauréate de la filière : Biologie Végétale et Ecologie.

Efficience de l'utilisation de l'eau chez le blé dur :Etude des mécanismes physiologiques et moléculaires (Protéines Aquaporines) : Définition d'ideotype

BENTAHAR.Soumia¹ &YKHLEF.Nadia¹

¹ *Laboratoire de Biochimie, Génétique et Biotechnologie Végétale, Université Constantine 1, Route AinEl Bey , Constantine, Algérie*

Soumia_bentahar@yahoo.fr

Résumé

Dans le but de définir un ideotype de blé ayant une bonne efficience de l'utilisation de l'eau, notre travail portera sur l'étude des mécanismes physiologiques et moléculaires impliqués dans l'efficience de l'utilisation de l'eau chez le blé dur. Notre problématique est de développer une approche intégrée de la physiologie du blé face à des variations de disponibilité en eau. Cette problématique est abordée au travers deux disciplines la physiologie et la biologie moléculaire. A fin de répondre a cette problématique notre travail est divisé en deux grandes parties :La première partie a été consacrée à l'étude des mécanismes morphologiques, physiologiques et biochimiques liés à l'efficience de l'utilisation de l'eau chez le blé dur soumis à trois régimes hydriques différents (95%,60% et 20%).La deuxième partie concerne l'étude des mécanismes moléculaires impliqués dans l'efficience de l'utilisation de l'eau en mettant l'accent sur rôle des Aquaporines de blé dans le maintien de l'état hydrique de la plante dans des conditions de stress hydrique ce qui fait appelle à une technique de quantification des transcrits ARNm en conditions de stress hydrique (une PCR quantitative en temps réel). Les travaux réalisés jusqu'à ce jour, avait pour objectif essentiel d'étudier les mécanismes morpho-physiologiques et biochimiques de la réponse du blé vis-à-vis un stress hydrique en étudiant plusieurs paramètres liés à l'efficience de l'utilisation de l'eau et de l'état hydrique de la plante. Les résultats obtenus ont permis de faire une sélection préliminaire des génotypes pour des paramètres morpho-physiologiques. Cette sélection est nécessaire pour la partie moléculaire du travail.

Mots clés : Efficience de l'utilisation de l'eau, blé dur, paramètres morpho-physiologiques, Aquaporines, analyse moléculaire.

Bentahar, Soumia & Ykhlef, Nadia. (2015). Efficience de l'utilisation de l'eau chez le blé dur : Mécanismes physiologiques et moléculaires (protéines Aquaporines) Définition d'un ideotype. Les Doctoriales de l'université des frères Mentouri Constantine Avril 2015 .

Efficienc e de l'utilisation de l'eau chez le blé dur : Etude des mécanismes physiologiques et moléculaires (Protéines Aquaporines) : Définition d'ideotype **BENTAHAR Soumia¹ & YKHLEF Nadia¹**

¹ *Laboratoire de Biochimie, Génétique et Biotechnologie Végétale, Université Constantine 1, Route AinEl Bey , Constantine, Algérie*
Soumia_bentahar@yahoo.fr

Résumé

L'efficience de l'utilisation de l'eau est considérée comme un caractère important pour les plantes en réponse de stress hydrique et qui est contrôlé par plusieurs mécanismes morphologiques, physiologies, et moléculaires. Dans le but de définir un ideotype de blé ayant une bonne efficience de l'utilisation de l'eau, notre travail portera sur l'étude des mécanismes physiologiques et moléculaires impliqués dans l'efficience de l'utilisation de l'eau chez le blé dur. Notre problématique est de développer une approche intégrée de la physiologie du blé face à des variations de disponibilité en eau. Cette problématique est abordée au travers deux disciplines la physiologie et la biologie moléculaire. A fin de répondre a cette problématique notre travail est divisé en deux grandes parties : La première partie a été consacrée à une caractérisation morpho-physiologique de l'efficience de l'utilisation de l'eau chez dix variétés de le blé dur soumises à trois régimes hydriques différents (95%, 60% et 20%). La deuxième partie concerne l'étude physiologique et moléculaire du rôle des protéines Aquaporine dans le maintien de l'état hydrique de la plante sous un stress hydrique. Les résultats obtenus ont révélé une diversité génotypique pour les caractères morpho-physiologiques étudiés, l'analyse statistique a permis de classer les variétés en groupes homogènes. Les résultats préliminaires de la quantification des AQP de blé en conditions de stress hydrique sont toujours en traitement statistique et discussion.

Mots clés : Efficience de l'utilisation de l'eau, blé dur, ideotype, paramètres morpho-physiologiques, Aquaporines.

Bentahar Soumia, Moulef,A, Belbekri,N, Bouldje,R, Ykhlef,N.(2016). La conductivité électrolytique, marqueur physiologique de tolérance au stress hydrique chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.). séminaire international sur la valorisation des ressources naturelles dans les zones semi-arides: « potentialités et perspectives d'amélioration » vrnzsa_2016

La conductivité électrolytique, marqueur physiologique de tolérance au stress hydrique chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.)

Soumia BENTAHAR, Adra MOUALLEF, Nadir BELBEKRI, Ryma BOULDJEJ, Nadia YKHLEF

Laboratoire de Génétique, Biochimie et Biotechnologie Végétale (GBBV), équipe de Biotechnologie et Amélioration des Plantes (BAP), Chaabet El Rassas, Université des Frères MENTOURI, Constantine.

Soumia_bentahar@yahoo.fr

Résumé

Les membranes cellulaires peuvent constituer l'une des premières cibles affectées par le stress chez les plantes ; d'où la grande importance de la notion de la stabilité membranaire. Le degré de dommage membranaire peut être estimé indirectement en mesurant le taux d'électrolytes cellulaires solubles.

Dans ce travail dix variétés de blé dur, locales et introduites, ont été cultivées sous serre en conditions semi-contrôlées et sous trois régimes hydriques, 95%, 60% et 20% de la capacité au champ. La mesure de la conductivité électrique est réalisée afin d'évaluer chez le blé dur la stabilité membranaire des cellules sous stress hydrique, elle est effectuée au stade 4^{ème} feuille du développement des plantes.

La variation dans les taux de la stabilité membranaire sous différents niveaux de stress hydrique apporte une information sur le comportement des variétés vis-à-vis la contrainte hydrique. Les résultats obtenus révèlent une augmentation du taux d'électrolytes pour les deux traitements imposés 60% et 20% en comparant avec le traitement témoin 95%. Les taux faibles de conductivité électrolytique enregistrés chez les plantes contrôles suggèrent une meilleure capacité, à maintenir un haut degré d'intégrité membranaire, en comparaison aux plantes stressées.

L'analyse de la variance révèle des différences significatives entre traitements, entre génotypes, de même que pour l'effet interaction (Génotype x Traitement). Ainsi le stress hydrique imposé, influence le taux d'électrolytes cellulaires chez les variétés étudiées. Les variations significatives des taux d'électrolytes cellulaires enregistrées traduisent de manière significative l'effet du stress hydrique imposé sur la stabilité des membranes cellulaires des plantes.

Mots clé : stabilité membranaire, contrainte hydrique, blé dur, tolérance au stress hydrique, taux d'électrolytes.

Soumia Bentahar, Iméne Hamrouche, Nadir Belbekri , Ryma Bouldje , Abdelhamid Djekoun, Nadia Ykhlef (2016). Water status parameters as indicators of drought tolerance in Algerian durum wheat . journées internationales de biotechnologies JIB. Décembre 18-22, Tunisie.

Water status parameters as indicators of drought tolerance in Algerian durum wheat

Soumia Bentahar, Iméne Hamrouche, Nadir Belbekri , Ryma Bouldje , Abdelhamid Djekoun, Nadia Ykhlef

Laboratoire de Génétique, Biochimie et Biotechnologie Végétale (GBBV), équipe de Biotechnologie et Amélioration des Plantes (BAP), Chaabet El Rasses, Université des Frères Mentouri, Constantine.

Soumia_bentahar@yahoo.fr

Background and aim

Changes in water characteristics of a plant - relative water content (RWC), water loss rate (WLR) and osmotic potential (OP) can be used as indicators of drought tolerance. The aim of this work is to study the effect of drought stress on the behavior of durum wheat varieties focusing on water status parameters.

Methods

Ten wheat genotypes (*Triticum durum* Desf) were grown under three water regimes (95% , 60%, 20% at field capacity). The experiment was conducted in a greenhouse under semi-controlled condition. At the 4th leaf stage the parameters relative water content (RWC), water loss rate (WLR), osmotic potential (PO) were measured. To evaluate differences among the wheat genotypes in response to different water regimes, data were subjected to an ANOVA analysis at the $P < 0.05$ significance level.

Results

The change in the parameters related to water status provides information about the behavior of the varieties grown under different water stress levels. The ANOVA analysis revealed significant difference between treatments and genotypes, the obtained results show a significant decrease in relative water content, water loss rate and the osmotic potential for both dry treatments imposed 60% and 20% comparing with the control treatment 95%. Moreover, this decline is accentuated with the severity of the stress imposed. Despite of the severity of the stress imposed some varieties have maintained a good turgor and might be suggested as Algerian drought tolerant genotypes.

Conclusion

The water status parameters are strongly affected by water stress, these criteria can be used as drought selection parameters to improve cereal production in dry areas and to obtain stable and high yielding varieties.

Key words: water status, durum wheat, water regimes, physiological traits, drought tolerance

***Références
bibliographiques***

1. **Abbassenne F. (1997).** Etude génétique de la durée des phases de développement et leur influence sur le rendement et ses composantes chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.). Thèse magister, INA Alger, 81p.
2. **Adjabi, A., H. Bouzerzour, C. Lelarge, A. Benmahammed, A. mekhlof, A. Hannachi. (2007).** Relationships between grain yield performance, temporal stability and carbon isotope discrimination in durum wheat (*Triticum durum* desf.) under Mediterranean conditions. *Journal of agronomy*, 6 : 294-301.
3. **Amour Selma, Moncef Bensalem, Mbarek Bennacer (2005).** Les céréales en Tunisie : production effet de sécheresse et mécanisme de résistance. *Science et changements planétaires /sécheresse*. 16(3) :225-9.
4. **Alireza, E., Farshad, H.(2013).** Water Use Efficiency Variation and Its Components in Wheat Cultivars. *American Journal of Experimental Agriculture*. 3(4): 718-730.
5. **Almeselmani, M., Abdullah, F., Hareri, F., Naesan, M., Ammar, M. A., ZuherKanbar, O., & Saud, A. A. (2011).** Effect of Drought on Different Physiological Characters and Yield Component in Different Varieties of Syrian Durum Wheat. *Journal of Agricultural Science*, 3(3), p127.
6. **Alexandersson, E., Fraysse, L., Sjövall-Larsen, S., Gustavsson, S., Fellert, M., Karlsson, M., Johanson, U., & Kjellbom, P. (2005).** Whole gene family expression and drought stress regulation of aquaporins. *Plant molecular biology*, 59(3), 469-484.
7. **Agarie, S., Hanaoka, N., Kubota, F., Agata, W., Kaufman, P. B., 東江榮, & 縣和一. (1995).** Measurement of cell membrane stability evaluated by electrolyte leakage as a drought and heat tolerance test in rice (*Oryza sativa* L.). *九州大学農学部紀要*, 40(1), 233-240.
8. **Agre P, Sasaki S, Chrispeels MJ (1993).** Aquaporins a family of water channel proteins. *Am J physiol* 256: 461.
9. **Agre P, Bonhivers M, Borgina MJ (1998).** The aquaporins, blueprints for cellular plumbing systems. *Journal of biological chemistry* 273: 14659-14662.
10. **Albouchi A., Sebei H., Mezni M. Y. et 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'INRGRF*. 4 : 138- 61p.
11. **Almeida-Rodriguez, A.M.; Cooke, J.E.; Yeh, F.; Zwiazek, J.J. (2010).** Functional characterization of drought responsive aquaporins in *populus balsamifera* and *populus simonii* X *balsamifera* clones with different droughtresistance strategies. *Physiol. Plant*. 140, 321–333.4
12. **Araus J. L., Ali Dib T. et Nachit M.(1998).** Some insights into morphological traits associated with cerealyield increases in Mediterranean environments. In: *Proceeding of SEWANA, ICARDA*: 139-157.
13. **Aroca, R., Ferrante, A., Vernieri, P., and Chrispeels, M. J. (2006).** Drought, abscisic acid and transpiration rate effects on the regulation of PIP aquaporin gene expression an abundance in *Phaseolus vulgaris* plants. *Annals of botany*, 98(6), 1301-1310.
14. **Aroca Ricardo, Rosa Porcel and Juan Manuel Ruiz-Lozano (2011).** Regulation of root water uptake under abiotic stress conditions. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 63, No. 1, pp. 43–57, 2012.

15. **Ashraf, M. and Foolad, M.R.,(2007).** Roles of Glycine Betaine and Proline in Improving Plant Abiotic Stress Resistance, *Environ. Exp. Bot.* 59: 206–216.
16. **Ayadi, M., Cavez, D., Miled, N., Chaumont, F., and Masmoudi, K. (2011).** Identification and characterization of two plasma membrane aquaporins in durum wheat(*Triticum turgidum* L. subsp. durum) and their role in abiotic stress tolerance. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49(9), 1029-1039.
17. **Bacon M.A. (2004).** Water use efficiency in plant biology . Oxford, UK:Blackwell Publishing.
18. **Bajji M., Lutts S.,Kinet J M., (2001).** Water deficit effects on solute contribution to osmotic adjustment as a function of leaf ageing in three durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars performing differently in arid conditions. *Plant Science* 160:669–681.
19. **Bajji M, Kinet J.M et Lutts S., (2002).** Osmotic and ionic effects of NaCl on germination, early seedling growth, and ion content of *Atriplex halimus* (Chenopodiaceae). *Can. J. Bot.* 3 (80): 297-304.
20. **Baloch, M. J., Dunwell, J., Khan, N. U., Khakwani, A .A., Dennett, M., and Jatoi, W. A .(2012).** Profiling dehydrin gene sequence and physiological parameters in drought tolerant and susceptible spring wheat cultivars.*Pakistan Journal of Botany.* 44(2): 801-806.
21. **Bataillon.T ; Chanteret.N ; Cenci.A. M. ; Gautier .(2006).** Impacte d'événements démographique et sélectifs sur la diversité des plantes cultivées : apport de l'analyse du polymorphisme allié a la théorie de la coalescence. *Les actes du BRG.* 6 :243-257.
22. **Bayoumi, T. Y., Eid, M. H., & Metwali, E. M. (2008).** Application of physiological and biochemical indices as a screening technique for drought tolerance in wheat genotypes. *African Journal of Biotechnology*, 7(14).
23. **Biela A, Grote K, Otto B, Hoth S, Hedrich R, Kaldenhoff R (1999).** The Nicotina tabacum plasma membrane aquaporin NTAQP1 is mercury-insensitive and permeable for glycerol *Plant J.* 18. 565-570.
24. **Ben Baaziz Ben Maad Khaoula.,(2011.)**Modulation de la conductivité hydraulique foliaire par la lumière chez le Noyer (*Juglans regia*): Approches écophysiological et moléculaire.Thèse Doc.Université Blaise Pascal.France.
25. **Benderradji, L., F. Brini, S. Ben Amar, K. Kellou, J. Azaza, K. Masmoudi, H. Bouzerzour, M. Hanin (2011).** Sodium transport in the seedlings of two bread wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes showing contrasting salt stress tolerance. *AJCS*, 5: 233-241.
26. **Ben naceur et Ben salem.(2000).**Amélioration de l'efficacité de l'utilisation de l'eau chez le blé par l'emploi des transpirants. *MEDIT* N° 1/2000.
27. **Benmati Mahbouba.(2014).** PGPR, paranodules, stimulation de la croissance et tolérance au déficit hydrique chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.) :Aspects moléculaires et génétiques.Thèse Doc.Université mentouri constantine.

28. **Benmahammed, A. M. Kribaa, H. Bouzerzour, A. Djekoun. (2010).** Assessment of stress tolerance in barley (*Hordeum vulgare* L.) advanced breeding lines under semi-arid conditions of the eastern high plateaus of Algeria. *Euphytica*, 172: 383-394.
29. **Bentahar Soumia , Abdelhamid Djekoun, Nadia Ykhlef (2015).** Morpho-physiological markers associated with Water Use Efficiency in Algerian durum wheat at different water regimes. *International Journal of Advanced Research* (2015), Volume 3, Issue 10 , 875 – 889
30. **Bernard, R. (2006)** L'eau et la vie. (éd).Dauphin. Paris : 13-59.
31. **Boominathan P., Shukla R., Kumar A., Manna D., Negi D., Verma P.K., Debasis C., (2004).** Long term transcript accumulation during the development of dehydration adaptation in *Cicer arietinum*. *Plant Physiology* 135, 1608-1620.
32. **Blokhina O., Virolainen E. & Fagerstedt K.V., (2003).** Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: A review. *Ann. Bot.*, 91, 179-194.
33. **Blum, A., R. Munns, J.B. Passioura, N.C. Turner, R.E. Sharp, J.S. Boyer, H.T. Nguyen, T.C. Hsiao.(1996)**. Genetically engineered plants resistant to soil drying and salt stress: how to interpret osmotic relations? *Plant Physiol.*, 110 : 1051–1053.
34. **Boutraa, T., Akhkha, A., Abdulkhaliq, A., Al-Shoaibiand, A., Alhejeli,M.(2010).** Effect of water stress on growth and water use efficiency (WUE) of some wheat cultivars (*Triticum durum*) grown in Saudi Arabia. *Journal of Taibah University for Science, JTUSCI* 3:39-48 . ISSN: 1658-3655.
35. **Bousba, R., Djekoun,A .,Ykhlef,N.(2012).** Protective enzyme system and osmoprotection in durum wheat (*Triticum durum*.Desf.)leaves under water deficit. *International Journal of Management Sciences and Business Research*, 2012, Vol. 1, Issue 12. (ISSN: 2226-8235).
36. **Bousba, R., Ykhlef, N ., Djekoun, A.(2009).** Water use efficiency and flag leaf photosynthetic in response to water deficit of durum wheat (*Triticum durum* Desf,World. journal of agricultural sciences. 5(5):609-6016,2009.
37. **Bousba, R., Djekoun,A .,Ykhlef,N.(2012).** Protective enzyme system and osmoprotection in durum wheat (*Triticum durum*.Desf.) leaves under water deficit. *International Journal of Management Sciences and Business Research*, 2012, Vol. 1, Issue 12. (ISSN: 2226-8235).
38. **Bousba Ratiba.(2012).**Caractérisation de la tolérance a la sécheresse chez le blé dur (*Triticum durum* Desf) Analyse de la physiologie et de la capacité en production .Thèse Doc. Université des Frères Mentouri Constantine.
39. **Bouzerzour H, Djekoun A,Benmhamed A et Hassous L,(1998).**Contribution de la biomasse aérienne, de l'indice de récolte et de la précocité au rendement en grain de l'orge(*H.Vulgare.L*) en zone semi aride d'altitude .*Cahiers Agriculture*, 7, PP 307-317.
40. **Bova F (2012).** Bilan céréaliier & oléo-protéagineux. Les marchés de FranceAgriMer.168-170-173.

41. **Boogaard, R.V.D., Alewijnse, D., Veneklaas, E.J., and Lambres .H.(1997).** Growth and water-use efficiency of 10 *Triticum aestivum* cultivars at different water availability in relation to allocation of biomass. *Plant, Cell and Environment* .20:200-210.
42. **Boyer J.S. (1985).** Water transport. *Annual Review of Plant Physiology* 36, 473-516.
43. **Bray E.A., Bailey-Serres J., Weretilnyk E. (2000).** Responses to abiotic stresses. In : B.B. Buchnau, W. Gruissem, R.L. Jones (Eds.), *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*, American Society of Plant Physiologists, Rockville, MD, p. 1158-1203.
44. **Buitink, J., O. Leprince, (2008).** Analyse post-génomique de la tolérance à la dessiccation. *Journal de la Société de Biologie*, 202 : 213-222.
45. **Carmen M Martínez-Ballesta, Rafael Diaz, Vicente Martínez, Micaela Carvajal.(2003).** Different blocking effects of HgCl₂ and NaCl on aquaporins of pepper plants.
46. **Cattivelli, L., P. Baldi, C. Crosatti, N. Di Fonzo, P. Faccioli, M. Grossi, A.M. Mastrangelo, N. Pecchioni, A.M. Stanca, (2002).** Chromosome regions and stress-related sequences involved in resistance to abiotic stress in Triticeae. *Plant Molecular Biology*, 48: 649-665.
47. **Cellier F., Conejero G., Breitler J.C., Casse F., (1998).** Molecular and physiological responses to water deficit in drought-tolerant and drought-sensitive lines of sunflower. Accumulation of dehydrin transcripts correlates with tolerance. *Plant Physiology* 116, 319-328.
48. **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), 143-146.
49. **Cha-um. S et Kirdmanee. C, (2008).** Effect of osmotic stress on proline accumulation, photosynthetic abilities and growth of sugarcane plantlets (*Saccharum officinarum* L.) *Pak. J.Bot.*, 40(6): 2541-2552.
50. **Chaumont F, Barrieu F, Wojcik E, Chrispeels MJ, Jung R (2001)** Aquaporins constitute a large and highly divergent protein family in maize. *Plant Physiol.* 125(3):1206-15.
51. **Chrispeels MJ, Maurel C (1994)** Aquaporins : The molecular basis of facilitated water movement through living plant cells ? *Plant physiology*. 105: 9-13.
52. **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.
53. **Condon R. A. Richards, G. J. Rebetzke 1 and G. D. Farquhar,(2004).** Breeding for high water-use efficiency. *J. Exp. Bot.* (2004) 55 (407): 2447-2460.
54. **Choi WG, Roberts DM (2007)** Arabidopsis NIP2;1, a major intrinsic protein transporter of lactic acid induced by anoxic stress. *J. Biol. Chem.* 282:24209–18.
55. **Cushman, J.C., G. Meyer, C.B. Michalowski, J.M. Schmitt, H.J. Bohnert. (1989).** Salt stress leads to the differential expression two isogenes of phosphoenolpyruvate carboxylase

- during Crassulacean acid metabolism induction in the common ice plant. *Plant Cell.*, 1: 715–725.
56. **Cui, X.H.; Hao, F.S.; Chen, H.; Chen, J.; Wang, X.C.(2008).** Expression of the vicia faba VFPIP1 gene in arabidopsis thaliana plants improves their drought resistance. *J. Plant Res.*, 121, 207–214.
57. **De Leonardis A.M., D. Marone, E. Mazzucotelli, F. Neffar, F. Rizza, N. Di Fonzo, L. Cattivelli, A.M. Mastrangelo. (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 Science*, 172: 1005-1016.
58. **De Rodríguez, D. J., Romero-García, J., Rodríguez-García, R., & Angulo-Sanchez, J L. (2002).** Characterization of proteins from sunflower leaves and seeds: relationship of biomass and seed yield. *Trends in new crops and new uses.* ASHS Press, Alexandria, VA, 143-149.
59. **Dexter. James. (2008).** *Plant breeding.* 104 : 325-33.
60. **Dicko M. H (2006).** Travaux pratique biochimie structurale et enzymologie. Centre de Recherche en Sciences Biologiques Alimentaires et Nutritionnelles. Univ. Ouagadougou.
61. **Dkhil, B. B., & Denden, M. (2012).** Effect of salt stress on growth, anthocyanins, membrane permeability and chlorophyll fluorescence of Okra (*Abelmoschus esculentus* L.) seedlings. *American Journal of Plant Physiology*, 7(4), 174-183.
62. **Djekoun, A., & Planchon, C. (1991).** Water status effect on dinitrogen fixation and photosynthesis in soybean. *Agronomy Journal*, 83(2), 316-322.
63. **Djermoun A (2009).** La production céréalière en Algérie : les principales caractéristiques. *Revue Nature et Technologie* 1 : 45-53.
64. **Donald.C.M, (1968).** The breeding of crop ideotypes, *Euphytica* Volume 17, Number 3, 385-403.
65. **El Tayeb, M.A.(2006).** Differential Response of Two Viciafaba Cultivars to Drought: Growth, Pigments, Lipid, Peroxidation, Organic Solutes, Catalase, and Peroxidase Activity. *ActaAgron Hung.* vol 54: 25– 37.
66. **Elseehy Mona M. and Ahmed M. El-Shehawi.(2015).** Gene Expression of Wheat (*Triticum aestivum*) Aquaporins under PEG1 nduced Dehydration. *ALEXANDRIA SCIENCE EXCHANGE JOURNAL*, VOL. 36, No.2
67. **Ergen, N.Z., J. Thimmapuram, H.J. Bohnert, H. Budak. (2009).** Transcriptome pathways unique to dehydration tolerant relatives of modern wheat. *Functional and Integrative Genomics*, 9: 377–396.
68. **Flexas J., Barbour M., Brendel O., Cabrera H.M., Carriqui M., Diaz-Espejo A., Douthe C., Dreyer E., Ferrio J.P., Galle A., Galmes J., Kodama N., Medrano H., Niinemets U., Peguero-Pina J.J., Pou A., Ribas-Carbo M., Tomas M., Warren W. (2012).** Mesophyll diffusion conductance to CO₂: an unappreciated central player in photosynthesis. *Plant Science* .
69. **Flexas.j, j. galmés, a. gallé, j. guliás, a. pou, m. ribas-carbo, m. tomàs and h. medrano.(2010).** Improving water use efficiency in grapevines: potential physiological targets

- for biotechnological improvement. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 16, 106–121, 2010
70. **Farissi, M., Bouizgaren, A., Faghire, M., Bargaz, A., & Ghoulam, C. (2013).** Agrophysiological and biochemical properties associated with adaptation of *Medicago sativa* populations to water deficit. *Turkish Journal of Botany*, 37(6), 1166-1175.
71. **Farooq, S. & Azam, F. (2001).** Co-Existence of Salt and Drought Tolerance in *Triticeae*. *Hereditas*, 135(2-3), 205-210.
72. **Forrest, K. L., & Bhawe, M. (2008).** The PIP and TIP aquaporins in wheat form a large and diverse family with unique gene structures and functionally important features. *Functional & integrative genomics*, 8(2), 115-133.
73. **Feillet, P. (2000).** Le grain de blé: composition et utilisation. Editions Quae.
74. **Fleury, D., S. Jefferies, H. Kuchel, P. Langridge. (2010).** Genetic and genomic tools to improve drought tolerance in wheat. *Journal of Experimental Botany*, 61 : 3211–3222.
75. **Fouquet R, Léon C, Ollat N, Barrieu F (2008).** Identification of grapevine aquaporins and expression analysis in developing berries. *Plant Cell Rep.* 27(9):1541-50.
76. **Fushimi K, Uchida S, Hara Y, Hirata Y, Marumo F, Sasaki S (1993).** Cloning and expression of apical membrane water channel of rat kidney collecting tubule. *Nature* 361: 549-552.
77. **Galmés, J., Pou, A., Alsina, M. M., Tomàs, M., Medrano, H., & Flexas, J. (2007).** Aquaporin expression in response to different water stress intensities and recovery in *Richter-110* (*Vitis* sp.): relationship with ecophysiological status. *Planta*, 226(3), 671-681.
78. **Gao, S.J., Wang, W.J., Guo, T.C. (2004).** C-N metabolic characteristics in flag leaf and starch accumulating developments in seed during grain filling stage in two winter wheat cultivars with different spike type, *Acta Agron. Sin.* 29 (3).427–431.
79. **Gaufichon Laure., Jean-Louis Prioul., Bernard Bachelier. (2010).** Quelles sont les perspectives, d'amélioration génétique de plantes cultivées tolérantes à la sécheresse ?. Fondation pour l'agriculture et la ruralité dans le monde FARM. <http://www.fondation-farm.org>
80. **Geigenberger P., Reimholz R., Deiting U., Sonnewald U., Stitt M., (1999).** Decreased expression of sucrose phosphate synthase strongly inhibits the water stress-induced synthesis of sucrose in growing potato tubers. *Plant Journal* 19, 119-129.
81. **Geravandia, M., Farshadfar, E., and Kahrizia, D. (2011).** Evaluation of Some Physiological Traits as Indicators of Drought Tolerance in Bread Wheat Genotypes 1. ISSN 10214437. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2011, Vol. 58, No. 1, pp. 69–75.
82. **Gerbeau P, Güclü J, Ripoche P, Maurel C (1999).** Aquaporin Nt-TIPa can account for the high permeability of tobacco cell vacuolar membrane to small neutral solutes. *Plant J.* 18:577–87.

- 83. Grezesiak, S., DE Barnaro, A., & Filek, W. (1992).** Assimilation, translocation and accumulation of C14 in two Maiz (*Zea mays* L.) hybrids of different drought tolerance. *Photosynthetica*. 27 (3): 585-593.
- 84. Gupta Pk, Hs Balyan, KJ Edwards, P. Isaac. (2002).** Genetic mapping of 66 new microsatellite (SSR) loci in bread wheat. *Theo appl genet* 105: 413-422.
- 85. Gupta Pushendra Kumar , Harindra Singh Balyan and Vijay Gahlaut (2017).** QTL Analysis for Drought Tolerance in Wheat: Present Status and Future Possibilities, *Agronomy* doi:10.3390/.
- 86. Guo, P., Baum, M., Grando, S., Ceccarelli, S., Bai, G., Li, R., & Valkoun, J. (2009).** Differentially expressed genes between drought-tolerant and drought-sensitive barley genotypes in response to drought stress during the reproductive stage. *Journal of experimental botany*, 60(12), 3531-3544.
- 87. Gur A, Zamir D. (2004)** .Unused natural variation can lift breeding barriers in plant breeding. *PLoS Biol.* 2, 1610–1615.
- 88. Hachez C, Zelazny E, Chaumont F (2006).** Modulating the expression of aquaporin genes in planta: A key to understand their physiological functions? *BBA-Biomembranes* 1758: 114221156.
- 89. Hachez Charles, Dimitry Veselov, Qing Ye, Hagen Reinhardt, Thoresten Knipfer, Friche et François Chaumont (2012).** Short-term control of maize cell and root water permeability through plasma membrane aquaporin isoforms. *Plant, Cell and Environment* .35, 185–198.
- 90. Hafsi, M. (2001).** Adaptation du blé dur dans les conditions des hautes plaines Sétifiennes. Thèse de doctorat d'Etat ès-sciences. Faculté des sciences, UFAS, Sétif, Algérie, 80 p.
- 91. Hamdy A, Ragab R, Scarascia-Mugnozza E. (2003).** Coping with water scarcity: water saving and increasing water productivity. *Irrigation and Drainage* 52, 3–20.
- 92. Hamla Chourouk, (2015).** Caractérisation des gènes de tolérance à la sécheresse chez le blé dur : étude du rôle des déhydrines et des aquaporines. Thèse. Doc. Université des Frères Mentouri Constantine.
- 93. Hamla, C., Brini, F., Ayadi, M., Masmoudi, K., Djekoun, A., Ykhlef, N. (2014).** Drought stress response in two Algerian durum wheat genotypes: physiological and molecular analysis of two stress responsive genes. *International Journal of Advanced Research* (2014) Volume 2 Issue. 10: 330-338.
- 94. Harb A., Krishnan A., Ambavaram M.M.R., Pereira, A., (2010).** Molecular and physiological analysis of drought stress in *Arabidopsis* reveals early responses leading to acclimation in plant growth. *Plant Physiology* 154, 1254 -1271.
- 95. 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.
- 96. Hireche T., (2006).** Réponse de la luzerne (*medicago sativa* l) au stress hydrique et à la profondeur de semis, département d'agronomie, option : agrotechnique, université al hadj lakhdar , batna. p 83.

97. Höfte H, Hubbard L, Reiser J, Ludevid D, Herman EM, Chrispeels MJ (1992). Vegetative and seed-specific isoforms of a putative solute transporter in the tonoplast of *Arabidopsis thaliana*. *Plant physiology*. 99: 561-570.
98. Holm LM, Jahn TP, Møller AL, Schjoerring JK, Ferri D, et al (2005). NH₃ and NH₄ permeability in aquaporin-expressing *Xenopus* oocytes. *Pflügers Arch*. 450 (6):415–28.
99. Hongbin Zhao, Zhengbin Zhang and Ping Xu, (2010). Enhanced aquaporin activity of two different genotypes of drought-resistant wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars facilitate their adaptation to drought stress. *Journal of Food, Agriculture & Environment* Vol.8 (2): 1158 – 1161.
100. Hong-bing Zhao, Wei-yi Song, Guo-dong Han, Hong-bo Shao, Sheng-wei Zhang, (2014). Dynamic change of wheat eco-physiology and implications for establishing high-efficient stable agro-ecosystems under Hg stress. *Ecological Engineering* 70(2014)50–55.
101. Ishikawa F, Suga S, Uemura T, Sato MH, Maeshima M (2005) Novel type aquaporin SIPs are mainly localized to the ER membrane and show cell-specific expression in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Lett* 24;579(25):5814-20.
102. Izabela, M., Iona, C-M., Edyta, S., Maria, F., Stanisław, G., Maciej, T. G., Franciszek, J., Tomasz, H., Michał, D., Kinga, D., Agata, N., Steve, A Q. (2013). Impact of osmotic stress on physiological and biochemical characteristics in drought-susceptible and drought-resistant wheat genotypes. *Acta Physiol Plant* (2013): 35:451.
103. Jangpromma N., Kitthaisong S., Daduang S., Jaisil P. & Thammairak S (2007). 18 kDa protein accumulation in sugarcane leaves under drought stress conditions. *Kmitl .Sci. Tech. J.7: 27- 44.*
104. Javot H, Maurel C (2002). The role of aquaporins in root water uptake. *Ann Bot* 90: 3012313.
105. Javot H, Lauvergeat V, Santoni V, Martin-Laurent F, Guclu J, et al. (2003). Role of a single aquaporin isoform in root water uptake. *Plant Cell* 15: 5092522.
106. Javot H, Varma Penmetsa, Nadia Terzaghi, Douglas R. Cook, and Maria J. Harrison. (2007). A *Medicago truncatula* phosphate transporter indispensable for the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *PNAS* .vol. 104 no. 51725.
107. Jones, D. P. (2006). Redefining oxidative stress. *Antioxidants & redox signaling*, 8(9-10), 1865-1879.
108. Jongdee, B., Pantuwan, G., Fukai, S. & Fischer, K. (2006). Improving drought tolerance in rainfed lowland rice: an example from Thailand. *Agric. Water Manage.*
109. Johansson I, Karlsson M, Johanson U, Larsson C, Kjellbom P (2000). The role of aquaporins in cellular and whole plant water balance. *Biochim Biophys Acta* 1465: 324-342.
110. Johanson U, Gustavsson S (2002). A new subfamily of major intrinsic proteins in plants. *Mol. Biol. Evol.* 19, 456–461.
111. Johanson U, Karlsson M, Johansson I, Gustavsson S, Sjövall S, Fraysse L, Weig AR, Kjellbom P (2001). The complete set of genes encoding major intrinsic proteins in *Arabidopsis* provides a framework for a new nomenclature for major intrinsic proteins in plants. *Plant Physiol.* 126(4):1358-69.

- 112. Kammerloher W., Schäffner AR .(1993)** PIP- An Arabidopsis thaliana plasma membrane MIP homologue cloned by expression in mammalian cells. In fifth international conference on Arabidopsis Research. Ohio State University, Columbus, OH, p185.
- 113. Kawasaki, S., Borchert, C., Deyholos, M., Wang, H., Brazille, S., Kawai, K., ... & Bohnert, H. J. (2001).** Gene expression profiles during the initial phase of salt stress in rice. *The Plant Cell Online*, 13(4), 889-905.
- 114. Kotchi, S. O. (2004).** Détection du stress hydrique par thermographie infrarouge. Application à la culture de la pomme de terre. Mémoire. Univ Laval Québec.
- 115. Kocheva, K., & Georgiev, G. (2003).** Evaluation of the reaction of two contrasting barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars in response to osmotic stress with PEG 6000. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, 49, 290-294.
- 116. Khan, H. R., Paull, J. G., Siddique, K. H., & Stoddard, F. L. (2009).** Faba bean breeding for drought-affected environments: A physiological and agronomic perspective. *Field Crops Research*, 115(3), 279-286.
- 117. Kaldenhoff, R.; Grote, K.; Zhu, J.J.; Zimmermann, U. (1998).**Significance of plasmalemma aquaporins for water transport in arabidopsis thaliana. *Plant J.*, 14, 121–128.
- 118. Kruse E, Uehlein N, Kaldenhoff R (2006).** The aquaporins. *Genome Biol.* 7(2):206.
- 119. Khirkam M.B et Kanemasu E.T.,(1983) .** Crop water relation wheat .Ed TEAR.DPEET .MM.John Wiley and sons :482-519.
- 120. Laberche, J-C. 2(004).** La nutrition de la plante In *Biologie Végétale*. Dunod. 2e (éd). Paris: 154 -163.
- 121. Laemmli, UK (1970).** Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of T4 bacteriophage. *Nature*. 227: 680-685.
- 122. Levitt, J. (1982).** Responses of plants to environmental stresses. Academic Presse, NewYork..
- 123. Lian, H.L.; Yu, X.; Ye, Q.; Ding, X.S.; Kitagawa, Y.; Kwak, S.S.; Su, W.A.; Tang, Z.C.(2004).** The role of aquaporin RWC3 in drought avoidance in rice. *Plant Cell Physiol.*481–489.
- 124. Lienard, D.; Durambur, G.; Kiefer-Meyer, M.C.; Nogue, F.; Menu-Bouaouiche, L.; Charlot, F.; Gomord, V.R.; Lassalles, J.P. (2008).**Water transport by aquaporins in the extant plant *Physcomitrella patens*. *Plant Physiol.* 146, 1207–1218.
- 125. Livak Kenneth J. and Thomas D. Schmittgen (2001).**Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 22DDCT Method. *METHODS* 25, 402–408 (2001).
- 126. Lobell D.B., Schlenker W., Costa--Roberts J. (2011).** Climate trends and global crop production since 1980. *Science* DOI:10.1126/science.1204531.
- 127. Magdalena Tomás Mir.(2012).** Physiological mechanisms involved in water use efficiency in grapevines. Thèse Doc.Université des îles Baléares.

128. **Maggio A, Joly RJ (1995)**. Effects of mercuric chloride on the hydraulic conductivity of tomato root systems. *Plant Physiol* 109: 331–335.
129. **Masle J, Gilmore SR, Farquhar GD(2005)**. The ERECTA gene regulates plant transpiration efficiency in Arabidopsis. *Nature*. Vol 436.
130. **Mahdieh, M.; Mostajeran, A.; Horie, T.; Katsuhara, M. (2008)**. Drought stress alters water relations and expression of PIP-type aquaporin genes in *Nicotiana tabacum* plants. *Plant Cell Physiol*. 2008, 49, 801–813.
131. **Martre, P. (1999)**. Architecture hydraulique d'une talle de fétuque élevée (*Festuca arundinacea* Schreb). Implication pour les relations entre la transpiration et l'expansion foliaire. Thèse de Doctorat. 131 p.
132. **Martre, P.; Morillon, R.L.; Barrieu, F.O.; North, G.B.; Nobel, P.S.; Chrispeels, M.J. (2002)**. Plasma membrane aquaporins play a significant role during recovery from water deficit. *Plant Physiol*. 130, 2101–2110.
133. **Martinez, X.D, (2010)**. **Effects of Irrigation and Nitrogen Application on Vegetative Growth, Yield and Fruit Quality in Peaches (*Prunus persica* L. Batsch Cv. Andross) for Processing**. Lleida University, Spain, PhD thesis.
134. **Maurel C, Reizer J, Schroeder JI, Chrispeels MJ (1993)** .The vacuolar membrane protein λ -TIP creates water specific channels in *Xenopus* oocytes. *EMBO Journal* 12: 2241–2247.
130. **Maurel, C. (1997)**. Aquaporins and water permeability of plant membranes. *Annual review of plant biology*, 48(1), 399-429.
135. **Maurel C., Chrispeels M.J., (2001)**. Aquaporins: a molecular entry into plant water relations. *Plant Physiology* 125, 135-138.
136. **Maurel C (2007)**. Plant aquaporins: Novel functions and regulation properties .*FEBS Letters* 581 :2227–2236
137. **Maurel C, Verdoucq L, Luu DT, Santoni V (2008)** .Plant aquaporins : membrane channels with multiple integrated functions. *Annu. Rev. Plant Biol.*59 :595-624.
138. **Maury P., Langlade N., Grieu P., Rengel D., Sarrafi A., Debaeke P., Vincourt P. (2011)**. Ecophysiologie et génétique de la tolérance à la sécheresse chez le tournesol. *Innovations Agronomiques* 14 (2011), 123-138.
139. **Mazzucotelli, E., A.M. Mastrangelo, C. Crosatti, D. Guerra, A.M. Stanca, L. Cattivelli. (2008)**. Abiotic stress response in plants: when posttranscriptional and posttranslational regulations control transcription, *Plant Science*, 174 :420–431.
140. **Medrano H., Flexas J., Ribas-Carbó M. & Gulías J. (2010)** .Measuring water use efficiency in grapevines. In: *Methodologies and Results in Grapevine Research*. (Eds Serge Delrot, Hipólito Medrano, Etti Or, LuigBavaresco, Stella Grando) pp. 57-70. Springer, Berlin.
141. **Medrano,H., Magdalena T., Martorell,S., Flexas,J., Hernández, E., Rosselló,J., Pou,A., Mariano J-E., Bota,J.(2015)**. From leaf to whole-plant water use efficiency (WUE) in complex canopies: Limitations of leaf WUE as a selection target. *The Crop Journal* 3(2015) 220-228.

- 142. Melloul, M., Iraqi, D., Udupa, S. M., Erba, G., El Alaoui, M. A., Ibriz, M., & El Fahime, E. (2014).** Analysis of mRNA Levels of Ten Genes Under Water Stress in *Triticum turgidum* subsp. *durum*. *Journal of Plant Studies*, 3(1), p65.
- 143. Mohammadreza, Z-K., Mahmoud, E-A, Ahmad, E., Ali, I.(2014).** Morphological Changes in Response to Drought Stress in Cultivated and Wild Almond Species. *International Journal of Horticultural Science and Technology* Vol. 1, No. 1 June 2014, pp 79-92.
- 144. Mokhtar Guerfel , Olfa Baccouri , Dalenda Boujnah , Wided Chaibi , Mokhtar Zarrouk , (2009).** Impacts of water stress on gas exchange, water relations, chlorophyll content and leaf structure in the two main Tunisian olive (*Olea europaea* L.) cultivars .*Scientia Horticulturae* 119 : 257–263.
- 145. 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.
- 146. Morison , J.I.L N. R. Baker, P. M. Mullineaux1 and W. J. Davies.(2007)** Improving water use in crop production. *Phil. Trans. R. Soc. B* (2008) 363, 639–658 doi:10.1098.
- 147. Morison et al .(2008).**Improving water use in crop production. *Phil. Trans. R. Soc. B* 12,vol. 363 no. 1491 639-658.
- 145. Mouellef Adra. (2010).** Caractères physiologiques et biochimiques de tolérance du blé dur (*Triticum durum* Desf.) au stress hydrique. Thèse magistère. Université Mentouri Constantine.
- 146. Nadjem Kamel.(2005).** Contribution a l'étude des effets du semis direct sur l'efficience d'utilisation de l'eau et le comportement variétal de la culture de blé en région semi-aride. Université Ferhat Abbas Sétif.
- 147. Nayyar, H., Gupta, D .(2006).** Differential sensitivity of C3 and C4 plants to water deficit stress: association with oxidative stress and antioxidants. *Environ. Exp. Bot.* 58: 106-113.
- 148. Neffar F. , C. Marè, H. Bouzerzour (2011).** Study of Barley (*Hordeum vulgare* L) Transcript Profiles Under Water Stress Conditions. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 5 : 1481-1488.
- 149. Neffar fahima. (2013).** Analyse de l'expression des gènes impliqués dans la réponse au stress abiotique dans différents génotypes de blé dur (*Triticum durum*) et d'orge (*Hordeum vulgare*) soumis à la sécheresse. Thèse Doc. Université Ferhat Abbas Sétif.
- 150. Nelson, G.C. et al. (2009).** Climate Change. Impact on Agriculture and Costs of Adaptation. IFPRI, Washington D.C.
- 151 Nouri Lilya (2011).** Identification de marqueurs physiologiques de la tolérance à la sécheresse chez le tournesol (*Helianthus annuus* L.). Thèse. Biologie végétale .Université des frères MENTOURI Constantine.
- 152 Nouri L., Ykhlef N. & Djekoun A. (2002).** Adjustment osmotique et comportement hydrique chez certaines variétés de blé dur : relation avec la tolérance à la sécheresse. Actes de séminaire' IIIème journées Scientifiques sur le blé'. Univ. Mentouri Constantine.

- 153 **OAIC (Office interprofessionnel des céréales et légumes secs), (2012).**Bultein des grandes cultures. Institut technique des grandes cultures ITGC., ministère de l'Agriculture et du Développement Rural.
- 154 **Öner, C., Götz, K-P., Ellmer, F., Chmielewski, F-M., Kaynak, M.A. 2014).**Determination of the relationship between water use efficiency, carbon isotope discrimination and proline in sunflower genotypes under drought stress. Australian journal of crop science. AJCS 8(2):232-242.
155. **Oono Y., Seki M., Nnjo T., Narusaka M., Fujita M., Satoh R., Satou M., Sakurai T., Ishida J., Akiyama K., Lida K., Maruyama K., Satoh S., Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K., (2003).** Monitoring expression profile of Arabidopsis gene expression during rehydration process after dehydration using ca 7000 full-length cDNA microarray. Plant Journal 34, 868-887.
156. **Ouvrard O., Cellier F., Ferrare K., Tusch D., Lamaze T., Dupuis J.-M., Casse-Delbart F., (1996).** Identification and expression of water stress- and abscisic acid-regulated genes in a drought-tolerant sunflower genotype. Plant Molecular Biology 31, 819-829.
157. **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.
158. **Parwata, I. I., D, Yudono., P, Kertonegoro., B. D, Kusmarwiyah, R. (2012).** Physiological responses of *Jatropha* to drought stress in Coastal Sandy Land condition. Makara J Sci, 16(2), 115-121.
159. **Passioura, J.B. (2002).** Soil conditions and plant growth. Plant, Cell and environment 25, 311-318.
- 160 **Passioura, J. B. (1977).** Grain yield, harvest index, and water use of wheat. J. Aust. Inst. Agric. Sci. 43, 117–121.
- 161 **Pratz J, Ripoche P, Corman B (1986).** Evidence for proteic water pathways in the luminal membrane of kidney proximal tubule. Biochim Biophys Acta 856: 259-266.
162. **Preston GM, Carroll TP, Guggino WB, Agre P. (1992).** Appearance of water channels in *Xenopus* oocytes expressing red cell CHIP28 protein. Science 256: 385-387.
163. **Y. Qiao, H. Zhang, B. Dong, C. Shi, Y. Li, H. Zhai, M. Liu (2010),** Agri. Water Manag, 97 pp. 1742–1748.
164. **Rana, R. M., Rehman, S. U., Ahmed, J., & Bilal, M. (2013).** A comprehensive overview of recent advances in drought stress tolerance research in wheat (*Triticum aestivum* L.). Asian J. Agri. Biol, 1, 29-37.
- 165 **Rampino, P., S. Pataleo, C. Gerardi, G. Mita G, C. Perrotta. (2006).** Drought stress response in wheat: physiological and molecular analysis of resistant and sensitive genotypes. Plant Cell Environ., 29: 2143-2152.
166. **Rauf, S. (2008).** Breeding sunflower (*Helianthus annuus* L) for drought tolerance. Commun Biometry Crop Sci. 3: 29–44.
- 167 **Rebetzke, G.J., A.G. Condon, G.D. Farquhar, R. Appels, R.A. Richards (2008).** Quantitative trait loci for carbon isotope discrimination are repeatable across environments and wheat mapping populations. Theoretical and Applied Genetics, 118 :123–137.

- 168 **Rong-hual LI, GUO Pei-pol, Michael Baumz, Stefania Grand and Salvatore Ceccarelli, (2006).** Evaluation of chlorophyll content and fluorescence parameters as indicators of drought tolerance in barley *Agricultural Sciences in China* 5(10): 751-757.
169. **Richards, R.A., G.J. Rebetzke, M. Watt, A.G. Condon, W. Spielmeyer, R. Dolferus. (2010).** Breeding for improved water productivity in temperate cereals: Phenotyping, quantitative trait loci, markers and the selection environment. *Functional Plant Biology*, 37: 85–97.
170. **Richards RA, Condon AG, Rebetzke GJ (2001)** . Traits to improve yield in dry environments. In: Reynolds MP, Ortiz-Monasterio JI, McNab A, eds: Application of physiology in wheat breeding. Mexico: CIMMYT, 88-100.
171. **Richards, R. A. (2004).** Physiological traits used in the breeding of new cultivars for water-scarce environments. In *New Directions for a Diverse Planet. Proc.*
172. **Rivers RL, Dean RM, Chandy G, Hall JE, Roberts DM, Zeidel ML(1997)** Functional analysis of Nodulin 26, an aquaporin in soybean root symbiosomes. *J. Biol. Chem.* 272:16256–61.
173. **Reyazul Rouf Mir. Mainassara Zaman-Allah ese Sreenivasulu .Richard Trethowan .Rajeev K. Varshney. (2012)** . Integrated genomics, physiology and breeding approaches for improving drought tolerance in crops. *Theor Appl Genet* (2012) 125:625–645 .
174. **Santos, A. B. D., & Mazzafera, P. (2013).** Aquaporins and the control of the water status in coffee plants. *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, 25(2), 79-93.
175. **Sayar, R., Khemira, H., Kameli, A., & Mosbahi, M. (2008).** Physiological tests as predictive appreciation for drought tolerance in durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *Agronomy research*, 6(1), 79-90.
176. **Secchi, F.; Lovisolo, C.; Schubert, A. (2007).** Expression of OePIP2;1 aquaporin gene and water relations of OLEA europaea twigs during drought stress and recovery. *Ann. Appl. Biol.* 150, 163–167.
177. **Schäffner AR (1998)** . Aquaporin function, structure and expression: are there more surprises to surface in water relations? *Planta* 204: 131-139.
178. **Schlenker, W. et D.B. Lobell. (2010).** Robust negative impacts of climate change on African agriculture. *Environ. Res. Lett.* 5 014010 doi: 10.1088/1748--9326/5/1/014010.
179. **Schneider K., Wells B., Schmelzer E., Salamini F., Bartels D., (1993).** Desiccation leads to the rapid accumulation of both cytosolic and chloroplastic proteins in the resurrection plant *Craterostigma plantagineum* Hochst. *Planta* 189, 120-131.
180. **Schneider, K., Brothers, M. E. & Kelly, J. D. (1997).** Marker assisted selection to improve drought resistance in common bean. *Crop Sci.* 37, 51–60.
181. **Schroeder, A., O. Mueller, et al. (2006).** "The RIN: an RNA integrity number for assigning integrity values to RNA measurements." *BMC Mol Biol* 7: 3.
182. **Seki M., Narusaka M., Abe H., Kasuga M., Yamaguchi- Shinozaki K., Carninci P., Hayashizaki Y., Shinozaki K., (2001).** Monitoring the expression pattern of 1300 Arabidopsis genes under drought and cold stresses using full-length cDNA microarray. *Plant Cell* 13, 61-72.

- 183. Seki M., Narusaka M., Ishida J., Nanjo T., Fujita M., Oono Y., Kamy A., Nakajama M., Enju A., Sakurai T., Satou K., Akyama K., Taji T., Yamahuchi-Shinozaki K., Carninci P., Kawai J., Hayashizaki Y., Shinozaki K., (2002).** Monitoring the expression profiles of 7000 Arabidopsis genes under drought, cold and high-salinity stresses using a full-length cDNA microarray *Plant Journal* 31, 279-292.
- 184. Serraj, R., Hash, C. T., Rizvi, S. M. H., Sharma, A., Yadav, R. S. & Bidinger, F. R. (2005).** Recent advances in marker assisted selection for drought tolerance in pearl millet. *Plant Prod. Sci.* 8, 334–337. (doi:10.1626/ppp.8.334).
- 185. Shakeel, A .A., Xiao-yu, X., Long-chang W., Saleem,M.F., Chen, M.,and Wang, L.(2011).** Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *African Journal of Agricultural Research* Vol. 6(9), pp. 2026-2032, 4 May, 2011. DOI: 10.5897/AJAR10.027.
- 186. Sidel VW, Solomon AK (1957).** Entrance of water into human red cells under an osmotic pressure gradient. *J Gen Physiol* 41: 243-257.
- 187. Siefritz, F.; Tyree, M.T.; Lovisolo, C.; Schubert, A.; Kaldenhoff, R. (2002).**PIP1 plasma membrane aquaporins in tobacco from cellular effects to function in plants. *Plant Cell*, 14, 869–876.
- 188. Silva, M. D. A., Jifon, J. L., Da Silva, J. A., & Sharma, V. (2007).** Use of physiological parameters as fast tools to screen for drought tolerance in sugarcane. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 19(3), 193-201.
- 189. Sinclair, R., W.N. Venables. (1983).** An alternative method for analyzing pressure – volume curves produced with the pressure chamber. *Plant Cell Environ.*, 6 : 211–217.
- 190. Smith, K., & Bhave, M. (2008).** Response of Plants to Salt and Water Stress and the Roles of Aquaporins. *Plant Stress and Biotechnology*, 90-104.
- 191. Smith-Espinoza, C.; Richter, A.; Salamini, F.; Bartels, D.(2003).** Dissecting the response to dehydration and salt (NaCl) in the resurrection plant *Cratogeomys plantagineum*. *Plant Cell Environ.* 1307–1315.
- 192. Soussana Jean-François (2014).** Dans certaines régions d'Europe, la production de blé pourrait baisser de 20 % d'ici à 2030 ». *LE MONDE* | 31.03.2014 à 10h23 • Mis à jour le 31.03.2014 à 12h09 |
- 193. Steele, K., Price, A. H., Shashidhar, H. E. & Witcombe, J. R.(2006)** .Marker-assisted selection to introgress rice QTLs controlling root traits into an Indian upland rice variety. *Theor. Appl.*
- 194. Steudle E (1992)** . The biophysics of plant water. compartmentation, coupling with metabolic processes, and water flow in plant roots. In GN Somero, CB Osmond, CL Bolis, eds, *Water and Life: A comparative analysis of water relationships at the organismic, cellular and molecular levels.* Springer-Verlag, Berlin : 173-204.
- 195. Steudle E, Peterson CA (1998).** How does water get through roots? *J Exp Bot* 4: 7752788.

- 196. Subudhi, P. K., Rosenow, D. T. & Nguyen, H. T. (2000)** .Quantitative trait loci for the stay green trait in sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench): consistency across genetic backgrounds and environments. *Theor. Appl. Genet.* 101, 733–741. (doi:10.1007/s001220051538)
- 197. Sugaya, S.; Ohshima, I.; Gemma, H.; Iwahori, S. (2002)**.Expression analysis of genes encoding aquaporins during the development of peach fruit. In *Proceedings of the XXVI International Horticultural Congress: Environmental Stress and Horticulture Crops* 618, Toronto, AB, Canada; pp. 363–370.
- 198. Sun, M., Xu, W., Zhu, Y., Su, W. and Tang, Z. (2001)**. A simple method for in situ hybridization to RNA in guard cells of *Vicia faba* L.: The expression of aquaporins in guard cells. *Plant Molecular Biology Reporter* 19:129-135.
- 199. Surbanovski, N.; Sargent, D.J.; Else, M.A.; Simpson, D.W.; Zhang, H.; Grant, O.M. (2013)** .Expression of *fragaria vesca* PIP aquaporins in response to drought stress: PIP down-regulation correlates with the decline in substrate moisture content. *PLoS ONE*
- 200. Takano J, Wada M, Ludewig U, Schaaf G, von Wiren N, Fujiwara T (2006)** .The *Arabidopsis* major intrinsic protein NIP5;1 is essential for efficient boron uptake and plant development under boron limitation. *Plant Cell* 18:1498–509.
- 201. Tambussi, E. A., Bort, J., Araus, J. L.(2007)**. Water use efficiency in C3 cereals under Mediterranean conditions: a review of physiological aspects. *Annals of Applied Biology*, 150: 307-321.
- 202. Tahi, H. (2008)**. Efficience de l'utilisation de l'eau d'irrigation chez la tomate par la technique PRD (Partial Rootzone drying) et étude des mécanismes physiologiques et biochimiques impliqués (Thèse Doct, Université Cadi Ayyad, Maroc).
- 203. Tardieu François et Tanguy Lafarge (2012)**. Améliorer les céréales pour une agriculture durable dans un contexte changeant. Salon international de l'agriculture. RENCONTRES SIA.
- 204. Tardieu F., Zivy M., (2006)**. Amélioration génétique de la tolérance des cultures à la sécheresse. In : J.- P. Amigues, P. Debaeke, B. Itier, G. Lemaire, B. Seguin, F. Tardieu, A. Thomas (Eds.), Sécheresse et agriculture. Réduire la vulnérabilité de l'agriculture à un risque accru de manque d'eau. Expertise collective scientifique, rapport, INRA, France, p. 242-257.
- 205. 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.
- 206. Trevino M.B., O'Connell A.M., (1998)**. Three drought-responsive members of the nonspecific lipidtransfer protein gene family in *Lycopersicon pennellii* show different developmental patterns of expression. *Plant Physiology* 116, 1461-1468.
- 207. Turner N.C.(1981)**. Techniques and experimental approaches for the measurement of plant water status. *Plant and Soil* 58, 339-366 .
- 208. Turner NC (1997)**.Further progress in crop water relations. *Advances in Agronomy* 58:293-338.
- 209. Turner N.C., (1986)**. Adaptation to water deficits: A changing perspective. *Australian Journal of Plant Physiology* 13, 175-190.

210. **Tyerman, S., Bohnert, H., Maurel, C., Steudle, E. and Smith, J. (1999).** Plant aquaporins: Their molecular biology, biophysics and significance for plant water relations. *Journal of Experimental Botany* 50:1055- 1071.
211. **Tyerman S.D., Niemietz C.M., Bramley H., (2002).** Plant aquaporins: multifunctional water and solute channels with expanding roles. *Plant Cell and Environment* 25, 173-194.
212. **Uehlein N, Lovisolo C, Siefritz F, Kaldenhoff R (2003) .** The tobacco aquaporin NtAQP1 is a membrane CO₂ pore with physiological functions. *Nature* 425:734–37.
213. **Umezawa, T., M. Okamoto, T. Kushiro, E. Nambara, Y. Oono, M. Seki, M. Kobayashi, T. Koshiba, Y. Kamiya, K. Shinozaki. (2006).** CYP707A3, a major ABA 8'-hydroxylase involved in dehydration and rehydration response in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.*, 46: 171-182.
214. **Viets F.G., (1962).** Fertiliser and efficient use of water. *Adv. Agron.*, 14, 223-264.
215. **Virlouvet, L. (2011).** Identification et caractérisation de gènes impliqués dans la variation de caractères quantitatifs affectés par la sécheresse chez le maïs (Doctoral dissertation, Université Paris Sud-Paris XI). 1-14.
216. **Wallace IS, Choi WG & Roberts DM (2006).** The structure, function and regulation of the nodulin 26-like intrinsic protein family of plant aquaglyceroporins. *Biochim. Biophys. Acta* 1758, 1165–1175.
217. **Wan Xianchong and Janusz J. Zwiazek.(1999).** Mercuric Chloride Effects on Root Water Transport in Aspen Seedlings. *Plant Physiology*, November 1999, Vol. 121, pp. 939–946.
218. **Wang W.X., Vinocur B., Altman A.,(2003).** Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta* 218, 1-14.
219. **Watkinson J.I., Sioson A.A., Vasquez-Robinet C., Shukla M., Kuma D., Ellis M., Heath L.S., Ramakrishnan N., Chevone B., Watson L.T., Van Zyl L., Egertsdotter U., Sederoff R.R., Grene R., (2003).** Photosynthetic acclimation is reflected in specific patterns of gene expression in droughtstressed loblolly pine. *Plant Physiology* 133, 1702-1716.
220. **William, G., Hopkins. (2003).** *Physiologie végétale*. Edition de boeck université .Paris. 453 p.
- 221 **Xiao-li, W.U., Wei-kai,B.(2012).** Statistical Analysis of Leaf Water Use Efficiency and Physiology Traits of Winter Wheat under Drought Condition, *Journal of Integrative Agriculture* .11(1): 82-89.
222. **Yamada S., Komori T., Myers P.N., Kuwata S., Kubo T., Imaseki H., (1997).** Expression of plasma membrane water channel genes under water stress in *Nicotiana excelsior*. *Plant Cell Physiology* 38, 1226-1231.
223. **Yamaguchi-Shinozaki K., Koizumi M., Urao S., Shinozaki K., (1992).** Molecular cloning of 9 cDNA that are responsive to desiccation in *Arabidopsis thaliana* Sequence analysis of one cDNA that encodes a putative transmembrane channel protein. *Plant Cell Physiology* 33, 217-224.

224. Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K., (2000). Molecular responses to dehydration and low temperature: Differences and cross-talk between two stress signaling pathways. *Current Opinion in Plant Biology* 3, 217-223.
225. Yamaguchi-Shinozaki, K., M. Kasuga, Q. Liu, K. Nakashima, Y. Sakuma, H. Abe, Z.K. Shinwari, M. Seki, K. Shinozaki (2002). Biological mechanisms of drought stress response. JIRCAS Working Report, 1-8.
226. Yang J, Zhang J, Huang Z, Zhu Q, Wang L (2000).Remobilization of carbon reserves is improved by controlled soil-drying during grain filling of wheat. *Crop Science* 40:1645-1655.
227. Yang J, Zhang J, Wang Z, Zhu Q, Liu L (2001).Water deficit induced senescence and its relationship to the remobilization of pre-stored carbon in wheat during grain filling. *Agronomy Journal* 93:196-206.
228. Yu, Q.; Hu, Y.; Li, J.; Wu, Q.; Lin, Z. (2005).Sense and antisense expression of plasma membrane aquaporin bnpip1 from brassica napus in tobacco and its effects on plant drought resistance. *Plant Sci*, 169, 647–656.
229. Ykhlef.N (2001) .Photosynthèse, activité photochimique et tolérance au déficit hydrique chez le blé dur (*Triticum durum* Desf). Thèse de doctorat d'état Université Mentouri Constantine. Algérie.
230. Ykhlef, N., and Djekoun, A.(2000). Adaptation photosynthétique et résistance à la sécheresse chez le blé dur (*Triticum turgidum* L. var. durum): Analyse de la variabilité génotypique. *Options Mediterr*, 40 : 327-330.
231. Ykhlef, N .,Djekoun, A.,Bensari, M.(1998). l'efficacité de l'utilisation de l'eau : Marqueur physiologique de la résistance à la sécheresse chez le blé dur *Triticum Durum*Desf .*Sciences& Technologie*, pp87-92.
232. 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.
233. Zhao Hong-bing , Wei-yiSong, Guo-dongHana, Hong-boShaod, , Sheng-weiZhang (2014). Dynamic change ofwheat eco-physiology and implicationsfor establishing high-efficientstableagro-ecosystemsunderHgstress. *Ecological Engineering* 70(2014) 50-55.
234. Zhao Hongbin Zhengbin Zhang and Ping Xu (2010).Enhanced aquaporin activity of two different genotypes of drought-resistant wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars facilitate their adaptation to drought stress. *Journal of Food, Agriculture & Environment* Vol.8 .
235. Zhou, S.; Hu, W.; Deng, X.; Ma, Z.; Chen, L.; Huang, C.; Wang, C.; Wang, J.; He, Y.; Yang, G. (2012).Overexpression of the wheat aquaporin gene, TaAQP7, enhances drought tolerance in transgenic tobacco. *PLoS ONE*
236. ZhuZ. , Z. M. Pei and H. L. Zheng, (2011). Effect of Salinity on Osmotic Adjustment Characteristics of *Kandelia candel* Russian *Journal of Plant Physiology*, 58(2): 226–232.
237. Zunaira Afzal , T. C. Howton , Yali Sun and M. Shahid Mukhtar (2016). The Roles of Aquaporins in Plant Stress Responses.*Journal of developmental biology* 1-22.

- 238. 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.

Annexes

Annexe.01

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 μ l	→ 0.07%
Acétone qsp	100ml	

Solution de rinçage (placer au froid) (B)

β -mercaptoéthanol	70 μ l	→ 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.02

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 (hydroxyméthylaminomethan)	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 (hydroxyméthylaminomethan)	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 (hydroxyméthylamino 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.

Annexe 03

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

Tableau.1. Poids moléculaire des protéines de références du Kit LMW (*Low Molecular Weight*).

Protéine	Poids moléculaire (KDa)
Phosphorylase b	97
Albumine sérique bovine	66
Ovalbumine	45
Carbonique anhydrase	30
Inhibiteur de la trypsine	20.1
<i>α</i> -lactalbumine	14.1

Annexe 04

Solutions utilisées pour le traitement HgCl₂

Solution 50 µM HgCl₂

Chlorure de mercure	0.14g
Eau distillée	1litre

Solution 100 µM HgCl₂

Chlorure de mercure	0.27g
Eau distillée	1litre

Annexe 05

EZ-10 Spin Column Plant RNA Mini-Preps Kit

Components	BS82314, 50 Preps
Buffer Rlysis	PG 25 ml
Universal GT Solution 18 ml	18 ml
Universal NT Solution 6 ml	6 ml
RNase free Water	5 ml
EZ 10 Spin Column	50
2 ml Collection Tube	50
Protocol	1

27,3	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
27,4	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
27,5	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
27,6	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
27,8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
28,1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
28,3	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
28,4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
28,6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
28,7	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
28,8	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
28,9	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
29,1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
29,6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
29,7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0
30,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
30,3	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
30,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
30,6	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
30,7	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1

T : témoin , S : stress de 60%CC, SS : stress de 20%CC.

Thème : Efficacité de l'utilisation de l'eau chez le blé dur : Etude des mécanismes physiologiques et moléculaires (Protéines Aquaporines) : Définition d'idéotype.

Nature du diplôme : Doctorat 3ème cycle en Biotechnologie, Biologie et Environnement, option « Biotechnologie et Génomique Végétales »

Résumé

L'efficacité de l'utilisation de l'eau 'EUE' est considérée comme une caractéristique importante associée à la tolérance à la sécheresse des plantes cultivées. La présente étude s'est fixée comme objectif d'étudier les mécanismes physiologiques et moléculaires de l'efficacité de l'utilisation de l'eau chez le blé dur en mettant l'accent sur l'implication des protéines de réponse au stress (Aquaporines) dans le maintien du statut hydrique. Trois expérimentations en conditions semi-contrôlées ont été menées, dix variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.) ont été cultivées sous trois régimes hydriques, 95%, 60% et 20% de la capacité au champ. Dans le premier essai plusieurs paramètres morphologiques et physiologiques liés à l'état hydrique et associés à l'efficacité de l'utilisation de l'eau ont été mesurés : la teneur relative en eau, le taux de déperdition de l'eau, le potentiel osmotique, le taux d'électrolytes, la conductance stomatique, la température foliaire, le taux de chlorophylle, la surface foliaire, le poids spécifique foliaire ainsi que l'efficacité de l'utilisation de l'eau EUE et ses composantes. La seconde expérimentation a été consacrée pour étudier quelques traits physiologiques de la réponse des protéines Aquaporins au stress hydrique en appliquant un blocage biochimique au chlorure de mercure $HgCl_2$. A l'échelle moléculaire, l'analyse du niveau d'expression de deux isoformes TdPIP1.1 et TdPIP2 d'Aquaporins a été réalisée sur des feuilles et des racines de blé en effectuant une PCR quantitative en temps réel. Les résultats obtenus révèlent des différences variétales hautement significatives pour l'ensemble des paramètres mesurés. Cette différence est essentiellement liée au niveau du stress imposé, pour la majorité des paramètres étudiés un stress modéré de 60% CC n'a pas beaucoup affecté les plantes. Le stress sévère de 20%CC affectent les plantes par : une diminution de la matière sèche totale ainsi que la quantité d'eau utilisée ce qui a aboutit à une augmentation de l'efficacité de l'utilisation de l'eau pour la majorité des variétés. De plus, le stress imposé a induit une diminution de la conductance stomatique, du taux de chlorophylle, la teneur relative en eau, du taux de déperdition, du potentiel osmotique de la surface foliaire et une augmentation de la température foliaire, du taux d'électrolytes et du poids spécifique foliaire. En outre, l'analyse de corrélation a révélé des corrélations significatives entre EUE et les paramètres étudiés tels que la quantité d'eau utilisée et la conductance stomatique qui sont considérés comme des traits importants à prendre en considération en étudiant l'EU. L'inhibition de l'activité des Aquaporins par le chlorure de mercure $HgCl_2$ a mis en évidence la relation entre ces protéines et les indicateurs de l'efficacité de l'utilisation de l'eau (transpiration, conductance stomatique). Nos résultats montrent que sous un stress de mercure les variétés ont présenté des capacités de résistance ou de tolérance différentes ce qui est fortement liée avec les différentes activités des Aquaporins (activation/inhibition) ainsi qu'avec les capacités adaptatives des variétés. Les résultats de l'analyse quantitative des gènes d'aquaporines en conditions de stress sévère a indiquée que le gène TdPIP1.1 est négativement régulé dans les racines, l'abondance des transcrits est plus marquée chez la variété Cirta. A l'inverse, une régulation positive du gène TdPIP2.1 a été soulignée dans les racines de la variété Boussem. Nos résultats peuvent suggérer la variété Boussem comme un génotype tolérant en ayant présenté une bonne efficacité de l'utilisation de l'eau en conditions de stress hydrique qui est une résultante de la régulation positive des gènes d'aquaporines au niveau des racines. Ces résultats préliminaires constituent un point de départ de la compréhension de la relation liant l'efficacité de l'utilisation de l'eau et l'activité des Aquaporines en conditions de sécheresse.

Mots clés : Efficacité de l'utilisation de l'eau (EUE), blé dur, Aquaporines.

Laboratoire de recherche : Génétique, Biochimie et Biotechnologie Végétale- UFM.

Membre du jury :

Président:	Pr. A. Djekoun Professeur Université des Frères Mentouri	Constantine
Rapporteur:	Pr. N. Ykhlef Professeur Université des Frères Mentouri	Constantine
Examineurs:	Pr. M. Boudjeniba Professeur ENS	Alger
	Pr.M.Hafsi Professeur Université Ferhat Abbas	Sétif
	Mme. R.Bousba MCA Université des frères Mentouri	Constantine