

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE MENTOURI DE CONSTANTINE

**FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET ECOLOGIE VEGETALE**



N° d'ordre : 118/D3C/2019

N° de série : 07/ECO/2019

## ***Thèse***

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de **Doctorat 3<sup>ème</sup> cycle LMD**  
En Biotechnologies, Biologie et Environnement  
Option : Les bases Biologiques de la Production et Biodiversité Végétale.

Préparée et soutenue par :

**MERABTA SARRA**

## **Thème**

L'accumulation de la proline sous déficit hydrique, synthèse et devenir après retour de l'arrosage chez les végétaux :  
Exemple des *Triticum* et *Hordeum*.

### **Membres du Jury :**

<b>Président :</b>	Pr. Merghem Rachid	Université Mentouri Constantine 1
<b>Directeur de Thèse :</b>	Pr. Benlaribi Mostefa	Université Mentouri Constantine 1
<b>Examineurs :</b>	Pr. Lahouel Mosbah	Université de Jijel.
	Pr. Rached- Kanouni	Université d'Oum El Bouaghi
	Mc (A) Boulacel Mouad	Université Mentouri Constantine 1

Année universitaire : 2018/2019.

## *Remerciements*

*Je voudrais remercier **M. Benlaribi Mostefa**, Professeur à l'Université Mentouri Constantine 1 qui a encadré cette thèse et pour m'avoir intégrée dans son équipe en tant que Directeur du laboratoire « Développement et Valorisation des Ressources Phytogénétiques ».*

*Mes remerciements sont adressés tout d'abord : à **M. Merghem Rachid**, Professeur à l'Université Mentouri Constantine 1 pour avoir aimablement accepté de présider le jury de ma thèse.*

*À **Madame Rached Kanouni**, Professeur à l'Université d'Oum El-Bouaghi de m'avoir honoré en acceptant de faire partie de ce jury, qu'elle trouve ici mes remerciements les plus sincères.*

*J'exprime aussi tous mes remerciements à **M. Lahouel Mosbah**, Professeur à l'Université de Jijel d'avoir accepté d'examiner ce travail en étant membre de mon jury.*

*Je remercie, enfin, le **Docteur Boulacel Mouad** Maître de conférences(A) à l'Université Mentouri Constantine 1 d'avoir accepté de faire partie de ce jury afin de juger mon travail.*

*Mes vifs remerciements vont à **M. Ménad A.**, **Madame Ménad** et **Madame Méchakra**, Professeurs à l'UMC<sub>1</sub> de Constantine et directeurs des différents compartiments du laboratoire de Biologie et Écologie microbienne pour leur accueil et pour m'avoir permis de réaliser une partie de mon étude au sein de leurs laboratoires. Ce stage m'a permis de faire le rapprochement entre les notions acquises et leurs applications concrètes, ce qui représente une source de motivation.*

*J'exprime également ma vive gratitude à **Meghnous Wissem** et **Kassah Laouar Mounia** enseignants chercheurs à l'UMC<sub>1</sub> pour l'accueil, le temps passé ensemble et le partage d'expériences au quotidien. C'est grâce aussi à leur aide et disponibilité que j'ai pu accomplir totalement mon travail. Elles furent d'une aide précieuse pour moi.*

*Enfin mes remerciements s'adressent à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail, à tous je dis Merci.*

## *Dédicaces*

*Avec l'aide de Dieu tout puissant, j'ai pu achever ce travail  
que je dédie :*

*À la bougie qui a éclairé mon chemin depuis ma naissance, à  
celle dont j'ai prononcé le premier mot, source de ma vie et de  
mon bonheur, à ma mère **Nora** que Dieu la préserve.*

*À Mon père à qui je souhaite un prompt rétablissement  
*incha'Allah.**

*À mon très cher frère unique **Bessem.***

*À mon cher oncle **Noreddine.***

*À la mémoire de mon grand père.*

*À ma grande famille.*

*À toutes mes amies chacune par son nom.*

# Sommaire

## Liste des abréviations

INTRODUCTION.....	1
-------------------	---

## Premier chapitre : Synthèse Bibliographique

<b>1. Le modèle biologique : céréales à paille.....</b>	<b>3</b>
1.1. Description générale de la plante.....	4
1.1.1. le Blé.....	4
1.1.1.1. le Blé dur.....	4
1.1.1.2. le Blé Tendre.....	6
1.1.2. l'Orge.....	6
1.2. Taxonomie des <i>Triticum</i> et <i>Hordeum</i> .....	8
1.3. Cycle biologique.....	8
1.4. Production et importance du blé et de l'orge dans le monde et en Algérie.....	10
<b>2. Les stress environnementaux.....</b>	<b>11</b>
2.1. Notion de stress, ses facteurs chez les plantes.....	11
2.2. Différents stress environnementaux.....	12
2.3. Le stress hydrique et terminologie de la sécheresse.....	13
2.3.1. Rôle et Importance de l'eau chez la plante.....	13
2.3.2. La sécheresse.....	14
2.3.2.1. Notion de déficit hydrique.....	14
2.3.2.2. Stress hydrique chez les végétaux.....	15
2.3.2.3. La résistance à la sécheresse.....	15
2.3.2.4. Stratégies de résistance développées par la plante en réponse à un manque d'eau.....	16
2.3.2.5. Influence du stress hydrique sur les plantes et le rendement des céréales en particulier.....	20
<b>3. Étude de l'adaptation aux conditions déficitaires.....</b>	<b>21</b>
3.1. Les différentes approches dans l'étude de l'adaptation à la sécheresse des céréales et la sélection de variétés tolérantes.....	21
3.2. Ordres et mécanismes d'adaptation des plantes face au stress hydrique.....	22
3.2.1. Adaptation phénologique.....	23
3.2.2. Adaptation morphologique.....	23
3.2.3. Adaptation physiologique.....	24
3.2.3.1. La capacité photosynthétique et conséquences du stress hydrique sur la photosynthèse.....	27
3.2.3.2. La chlorophylle.....	28
3.2.3.2.1 - Définition, caractéristiques et structure chimique de la chlorophylle.....	28
3.2.3.2.2 - Biosynthèse des Chlorophylles.....	30
3.2.3.2.3 - Le phénomène de la dégradation de la chlorophylle.....	31
3.2.3.2.4 - Destinée de la chlorophylle en cas de stress hydrique.....	31
3.2.3.3. La régulation stomatique.....	32

3.2.3.4. L'ajustement osmotique. ....	34
3.2.4. Adaptation biochimique .....	34
3.2.4.1. La signalétique du stress hydrique.....	36
3.2.4.2. Réponses par médiation d'ABA.....	38
3.2.4.3. Le stress hydrique déclenche la synthèse de nouvelles protéines .....	38
3.2.4.4. Le stress hydrique induit une synthèse de molécules « protectrices » et osmotiquement actives. ....	39
3.2.4.5. L'osmolyte Proline .....	40
3.2.4.5.1 - Les acides aminés végétaux .....	40
3.2.4.5.2 - L'accumulation des substances organiques chez les végétaux .....	42
3.2.4.5.3 - La proline : définition et structure biochimique .....	43
3.2.4.5.4 - L'accumulation de l'osmolyte proline chez les végétaux et les céréales.. .....	44
3.2.4.5.5 - Synthèse et dégradation de la proline .....	46
3.2.4.5.6 - Explication enzymatique du métabolisme et catabolisme de la proline. ....	49
3.2.4.5.7 - Régulation du métabolisme de la proline lors d'un stress hydrique et oxydatif et après réhydratation. ....	50
3.2.4.5.8 - Relation entre l'acide iminé proline et la chlorophylle chez les végétaux soumis à un stress hydrique. ....	51
3.2.4.5.9 - Rôle de la proline chez une plante soumise à un stress hydrique (sécheresse).....	52
3.2.4.6. Réponses par médiation des sucres .....	53
<b>4. Les plantes sous irrigation déficitaire et stress oxydatif.....</b>	<b>54</b>
4.1. Plantes et stress oxydatif.....	54
4.1.1. Stress oxydatif et espèces réactives de l'oxygène.....	54
4.1.2. Les radicaux libres : Définition, Production et Principaux radicaux libres oxygénés (ROS).....	56
4.1.3. Sources des espèces réactives de l'oxygène dans les plantes et la cellule végétale.....	59
4.2. Relation entre le stress hydrique et le stress oxydatif.....	60
4.2.1. Risque de production des espèces réactives de l'oxygène sous stress hydrique et Moyens de défense.....	61
4.2.2. Le signal Redox sous conditions de sécheresse. ....	62
4.3. Conséquences du stress oxydatif .....	64
4.3.1. Intérêt du dosage du Malonedialdéhydes (MDA).....	65
4.3.2. Oxydation des protéines. ....	65
4.4. Les systèmes de défense antioxydants.....	65
4.4.1. Les principaux antioxydants non enzymatiques.....	67
4.4.1.1. Proline et ROS .....	67
4.4.2. Les enzymes antioxydantes.....	67
4.4.2.1. La superoxyde dismutase (SOD).....	68
4.4.2.2. La catalase (CAT).....	69
4.4.2.3. La peroxydase (POD). ....	69
4.4.2.4. Les enzymes du cycle de l'ascorbate : L'ascorbate peroxydase (APX).....	70

## Deuxième chapitre : Matériel et Méthodes

<b>1. Matériel végétal</b> .....	71
<b>2. Conduite, organisation des essais et localisation des sites expérimentaux</b> .....	71
<b>3. Premier essai sous serre</b> .....	71
3.1. Préparation des pots et semis .....	71
3.2. Conditions expérimentales .....	72
3.3. Application du stress hydrique .....	73
<b>4. Mesures et analyses effectuées</b> .....	74
4.1. Méthodes de dosage biochimiques .....	74
4.1.1. Dosage de la proline .....	74
4.1.2. Détermination des chlorophylles.....	76
4.1.3. Mesure du malonedialdéhyde (MDA) : .....	77
4.2. Dosage des enzymes antioxydantes et des protéines.....	77
4.2.1. Préparation de l'extrait enzymatique des échantillons.....	77
4.2.2. Dosage de l'activité superoxyde dismutase (SOD).....	78
4.2.3. Dosage de l'activité catalase (CAT).....	78
4.2.4. Extraction et dosage des peroxydases (POD) .....	78
4.2.5. Dosage de L'ascorbate peroxydase (APX) .....	79
4.2.6. Dosage des protéines .....	79
<b>5. Analyse statistique</b> .....	79

## Troisième chapitre : Résultats et Discussion

<b>1. Relation teneur en proline et taux de chlorophylle</b> .....	80
1.1. Variation de la teneur en proline aux cours des deux phases du cycle biologique (montaison, épiaison).....	80
1.2. Variation du taux de chlorophylle aux cours de ces deux phases .....	86
1.3. Évolution concomitante de ces deux paramètres.....	94
<b>2. Effet du stress hydrique oxydatif sur la peroxydation lipidique (MDA)</b> .....	95
<b>3. Résultats des activités antioxydantes</b> .....	98
3.1. Évolution de l'activité enzymatique superoxyde dismutase (SOD).....	98
3.2. Évolution de l'activité enzymatique catalase (CAT).....	101
3.3. Évolution de l'activité enzymatique peroxydase (POD) .....	103
3.4. Évolution de l'activité enzymatique ascorbate peroxydase (APX).....	105
<b>4. Effet du stress hydrique oxydatif sur la synthèse des protéines</b> .....	107
<b>5. Proline- chlorophylle- stress oxydatif</b> .....	109
<b>CONCLUSION</b> .....	112
<b>Références Bibliographiques</b> .....	114
<b>Annexes</b>	
<b>Résumés</b>	
<b>Publication</b>	

## Liste des abréviations :

**ADH** : avec déficit hydrique.

**APR1** : après 24h (retour de l'arrosage 1).

**APR2** : après 7 jours (retour de l'arrosage 2).

**APX** : L'ascorbate peroxydase.

**C.C** : capacité au champ.

**CAT** : catalase.

**Chl** : Chlorophylle.

**Do** : densité optique.

**FA**: Florence aurore 8193.

**FAO**: Food and Agriculture Organization.

**GGR** : Gamgoum Rekham.

**Haur** : Haurani.

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

**MDA** : malonedialdéhyde.

**Mexi** : Mexipak..

**MF** : matière fraîche.

**MS** : matière sèche.

**OAIC** : Office algérien interprofessionnel des céréales.

**POD**: peroxydases.

**PSI** : photosystème I

**PSII** : photosystème II.

**SDH** : témoins- sans déficit hydrique.

**SOD** : superoxyde dismutase.

**ROS** : espèces réactives d'oxygène.

**ERO** : espèces réactives d'oxygène 2<sup>ème</sup> appellation.

# ***INTRODUCTION***



La culture des céréales est exposée annuellement soit à l'insuffisance des précipitations, soit à la mauvaise répartition de ces précipitations dans le temps le long du cycle biologique de la plante (Benlaribi *et al.*, 2014). La sécheresse est largement reconnue comme le premier facteur limitant de la production agricole et constitue une contrainte permanente induisant un stress hydrique, ce dernier touche la croissance et la productivité encore plus que tous les autres stress (Kramer, 1983), au niveau cellulaire, la conformation des membranes, l'organisation des chloroplastes et l'activité des enzymes sont affectées et la plante devient plus sensible aux autres stress car l'eau agit comme matrice pour toutes les réactions au niveau de la phase photochimique de la photosynthèse, (Vadez *et al.*, 2012 ; Moore & Lobell., 2015).

Plusieurs études ont montré que, lors d'un déficit hydrique, les plantes adoptent des stratégies qui diffèrent d'une espèce à une autre et qui font intervenir une large combinaison de facteurs morphologiques, physiologiques et biochimiques (Benlaribi & Monneveux, 1988 ; Monneveux & Belhassen, 1996). Ces auteurs ont conclu donc que les variétés de céréales résistantes au déficit hydrique se caractérisent par une stratégie regroupant en même temps, un ensemble de mécanismes d'adaptation (Rejeb & Ben Salem, 1993).

À moyen terme, la plante s'adapte au déficit hydrique par un ajustement osmotique « actif » des cellules. Ce mécanisme, qui participe au maintien des structures cellulaires et évite une déperdition d'eau, se manifeste par une accumulation d'osmolytes (des acides aminés ; comme la proline (Benlaribi & Chaib 1995 ; Benlaribi *et al.*, 2014), des polyamines, des acides organiques, des sucres ; comme le saccharose, des amines quaternaires et des sels minéraux) dans les cellules (Delauney & Verma, 1993 ; Premachandra *et al.*, 1992 ; Tarczynski *et al.*, 1993).

L'osmorégulation indique que les acides aminés libres peuvent jouer un rôle significatif dans ce processus (Jones *et al.*, 1980). Parmi les acides aminés pouvant être accumulés, la proline l'une des manifestations les plus remarquables des stress hydriques et osmotiques. Son rôle d'osmoticum a été rapporté par de nombreux auteurs (Stewart & Lee, 1974 ; Kauss, 1977 ; Pirzad *et al.*, 2011 ; Xiong *et al.*, 2012 ; Benlaribi *et al.*, 2014 ) et dans le criblage de génotypes résistants (Benlaribi & Monneveux, 1988 ; Bellinger *et al.*, 1989). Cette molécule est considérée comme un indicateur aussi bien des stress biotiques (Mohanty &

Sridhar, 1982) que des stress provoqués par des contraintes abiotiques tel que la salinité, le déficit hydrique (Hubac *et al.*, 1980).

L'augmentation de la teneur foliaire en proline libre a été considérée pendant longtemps comme le résultat du seul phénomène de protéolyse. Mc Michael et Elmore (1977) observent toutefois une réduction de la teneur en acide glutamique concomitante de l'augmentation de la teneur en proline et suggèrent que l'accumulation de la proline est due à une synthèse accrue à partir de l'acide glutamique. Alors que pour (Hubac *et al.*, 1980) l'accumulation résulterait d'un double phénomène d'hydrolyse et de synthèse. Ainsi, ce métabolite primaire dont la synthèse et la régulation sont encore peu maîtrisées est induit sous l'effet de contraintes de l'environnement de culture et notamment sous l'effet d'une alimentation hydrique contraignante.

Le déficit hydrique induit également un stress oxydatif avec la formation de radicaux libres (ROS), de nombreux travaux montrent que des métabolites enzymatiques et non enzymatiques antioxydants s'accumulent plus pendant le stress hydrique (Sudhakar *et al.*, 2001), la défense enzymatique est représentée par la catalase, la peroxydase, la superoxyde dismutase, l'ascorbate peroxydase (Durak *et al.*, 2010).

Dans ce cadre, notre travail vise à étudier la régulation du métabolisme de la proline et à identifier les éléments et voies de signalisation impliquées, et à évaluer l'effet du stress hydrique oxydatif sur la synthèse de ce composé depuis les molécules précurseurs, la présente contribution consiste dans une première partie à suivre l'évolution de la production de la proline comparée à celle de la chlorophylle vu que les deux possèdent le glutamate comme précurseur commun, cela en fonction du rythme de sa capacité de synthèse après retour à l'arrosage et suivre sa disparition. Et de contribuer dans une seconde partie à préciser la nature de la relation, entre cet acide aminé et le reste des paramètres enzymatiques étudiés à savoir SOD, POD, APX et CAT ainsi qu'avec la MDA.

**\*Premier Chapitre\***

**Synthèse Bibliographique**

## 1. Le modèle biologique : céréales à paille.

Les céréales constituent 45 % des apports énergétiques dans l'alimentation humaine. Leur utilisation organisée est à l'origine des civilisations. Il existe trois groupes de céréales majeures qui correspondent à 75 % de la consommation céréalière mondiale (Clerget, 2011).

\*Un premier grand groupe de céréales est formé principalement par le blé et l'orge. Il a émergé dans le croissant fertile (Figure 1), berceau des civilisations orientales qui ont eu donc leur point de départ au Moyen Orient et au Proche Orient.

\*Un deuxième grand groupe est formé par le maïs. Il est originaire d'Amérique centrale. Il est à la base des civilisations amérindiennes. Le maïs a été importé en Europe par les explorateurs du Nouveau-Monde à la fin du XVIe siècle.

\*Un troisième grand groupe est ordonné autour du riz. C'est une plante originaire des régions chaudes et humides de l'Asie du Sud-Est. Sa domestication s'est faite de façon synchrone avec la domestication du blé plus à l'ouest. Le riz est à la base des civilisations orientales (Clerget, 2011).



**Figure1.** Les pays du Croissant Fertile. ([www.guidemondialdevoyage.com](http://www.guidemondialdevoyage.com))

D'après Feldman (1976), les premières évidences archéologiques de récolte de céréales datent du Néolithique, d'un peu moins de 8000 ans avant J.-C. et se trouvent au Moyen Orient représenté par le Croissant Fertile : Figure 1 (vaste territoire comprenant, la Vallée du Jourdain et les zones adjacentes de Palestine, de la Jordanie et de l'Irak, voire de la bordure Ouest de

l'Iran). Ceci correspond au début de la période du Dryas qui fut localement un épisode climatique de sécheresse et de refroidissement, ayant abouti à l'arrêt progressif du mode de vie chasseur et cueilleur entraînant la domestication de certaines plantes dont les céréales ( Hayden , 1990 ; Wadley & Martin , 1993).

## 1.1. Description générale de la plante

### 1.1.1. le Blé

Historiquement c'est une des premières céréales cultivées dans le monde. Au point de vue quantitatif, c'est la troisième céréale la plus cultivée avec environ 600 millions de tonnes par an, Il peut être pris comme référent pour définir les caractères botaniques des céréales (Clerget, 2011).

C'est une graminée dont "la tige" rectiligne creuse est cloisonnée par des nœuds pleins et renflés : ce genre de tige a reçu le nom de chaume. Vers la base, chaque nœud au contact du sol porte un faisceau de racines adventives et souvent une tige verticale non ramifiée. C'est ainsi qu'un seul grain peut donner naissance à plusieurs tiges. Le phénomène favorisé par les roulages de printemps a reçu le nom de tallage.

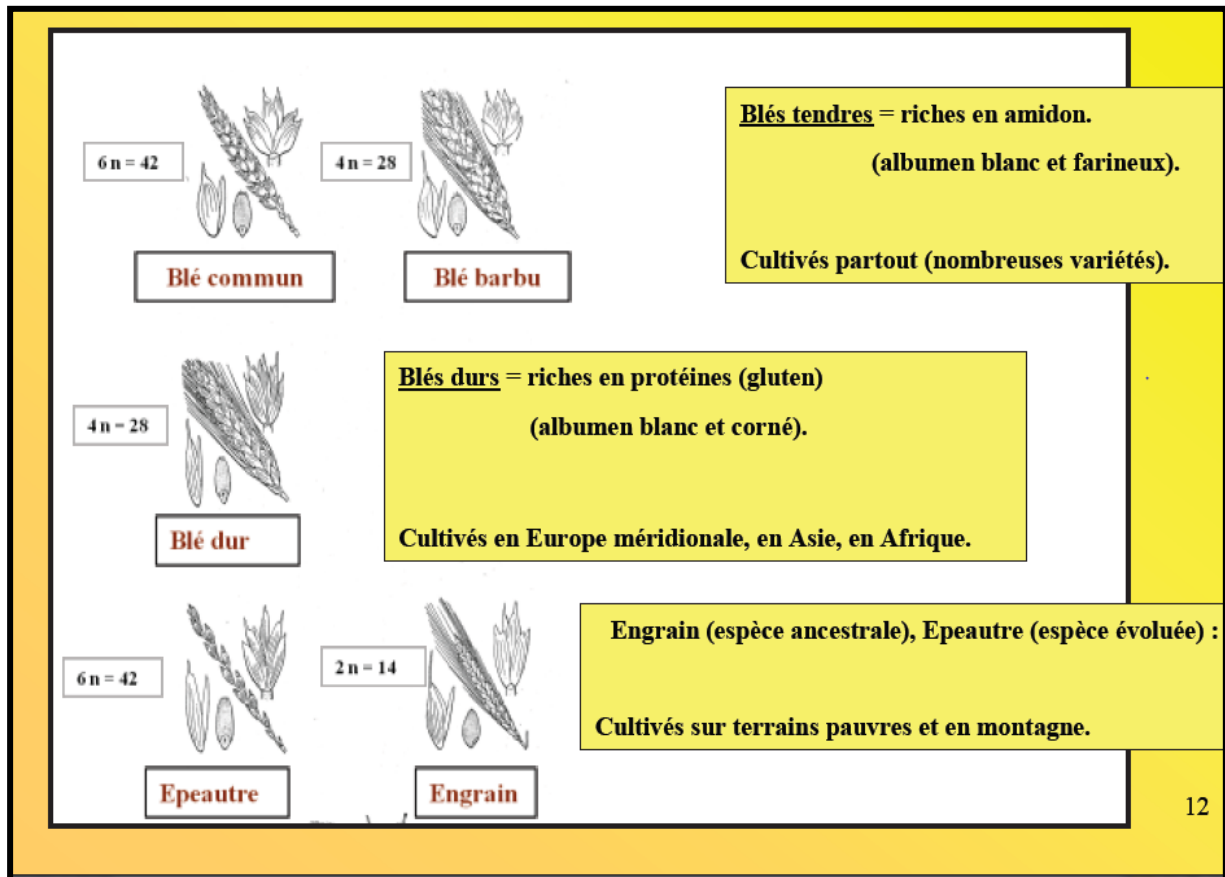
Les feuilles qui prennent naissance au niveau des nœuds sont disposées en deux rangées opposées autour de la tige. Elles sont sans pétiole, engainantes à la base avec une languette membraneuse appelée ligule, puis rubanées avec des nervures parallèles. C'est une plante annuelle, semée à l'automne (blé d'hiver) ou au printemps (blé de printemps), qui fructifie en été.

Les deux principales espèces actuellement cultivées sont le blé commun ou blé tendre, riche en amidon, cultivé un peu partout dans les régions tempérées : *Triticum aestivum* L. et le blé dur, riche en amidon et en gluten, cultivé dans des zones plus chaudes et plus sèches : *Triticum durum* (Desf.) (Figure 2).

#### 1.1.1.1. le Blé dur

Le blé dur (*Triticum turgidum* L. subsp. *durum* (Desf.) Husn.) est une céréale, cultivée depuis la préhistoire, connue pour son grain dur et vitreux. Il est riche en protéines et en gluten ; nom de l'espèce : *Triticum durum* Desf. Le blé dur ne doit pas être confondu avec le *hard wheat*, nom donné en Amérique du Nord au blé tendre. C'est une monocotylédone de la famille des Poacées (anciennement Graminées), de la tribu des Triticées et du genre *Triticum* ; un hybride de *Triticum monococcum* et *Aegilops speltoides* tétraploïde contenant 28 chromosomes

(Figure 2). En termes de production commerciale et d'alimentation humaine, cette espèce est la deuxième plus importante du genre *Triticum* après le blé tendre ou *Triticum aestivum* L. (Bozzini, 1988).



**Figure 2.** Les principales espèces cultivées de blé (Clerget, 2011).

Les blés sauvages tétraploïdes sont largement répandus au Proche-Orient, où les humains ont commencé à les récolter dans la nature (Bozzini, 1988). Comparativement aux blés diploïdes, ayant de grands épis et leurs gros grains les rendaient beaucoup plus intéressants pour la domestication. On croit que le blé dur provient des territoires actuels de la Turquie, de la Syrie, de l'Iraq et de l'Iran (Feldman, 2001). Puis, il s'est répandu du Proche-Orient jusqu'aux grandes régions productrices de la Méditerranée et du Moyen-Orient, y compris Égypte et Éthiopie. Des milliers d'années de culture et de sélection ont abouti à la formidable variabilité des blés tétraploïdes issus de l'amidonier sauvage. Un certain nombre de sous-espèces ont donc été caractérisées, principalement d'après les caractères morphologiques (van Slageren, 1994) : *T. turgidum* ssp. *paleocolchicum*, *T. turgidum* ssp. *polonicum*, *T. turgidum* ssp. *turanicum*, *T. turgidum* ssp. *T.carthlicum*, *T. turgidum* ssp. *turgidum* et *T. turgidum* ssp. *durum*. Parmi tous les blés tétraploïdes cultivés, *T. turgidum* ssp. *durum* est de loin le plus important.

### 1.1.1.2. le Blé Tendre

Rechercher l'origine du blé tendre *aestivum* L. , espèce hexaploïde, revient à évoquer l'ensemble des blés, historiquement cultivés, diploïdes, tétraploïdes et hexaploïdes, et à identifier leurs ascendants sauvages ainsi que leurs sites de domestication.

Très probablement, le blé hexaploïde – dont le blé tendre, *T. aestivum* ssp. *aestivum* n'est que la sous-espèce aujourd'hui la plus largement cultivée - a pour origine géographique le Nord-Ouest de l'Iran et/ou le Nord-Est de la Turquie et résulte de l'hybridation entre blé tétraploïde cultivé - vraisemblablement ssp. *parvicoccum* ou ssp. *dicoccon* à génome (AABB) - et la graminée sauvage *Aegilops tauschii* - génome (DD), suivie de doublement chromosomique spontané (Figure 2). Diverses découvertes archéologiques ont permis d'établir une carte assez détaillée incluant diverses étapes de l'expansion de la culture des blés à partir du Croissant fertile au cours des huitièmes et septièmes millénaires (Mc Fadden & Sears, 1946).

### 1.1.2. l'Orge

L'orge (*Hordeum vulgare* L.) est une céréale à paille. C'est une plante annuelle des régions tempérées du globe, autofécondée, très semblable au blé dans la morphologie de ces organes végétatifs et floraux, L'orge sauvage qui est aussi originaire du Croissant fertile a été domestiquée en même temps et sur les mêmes sites que le blé.

Beaucoup d'historiens en nutrition pensent que l'orge est la plus vieille graine cultivée. Les anciennes générations faisaient du pain à l'orge bien avant qu'elles apprennent à cultiver et moulinier le blé en farine.

On distingue des orges d'hiver et des orges de printemps, des orges à 2, à 4, à 6 rangs. Les feuilles sont planes à ligule courte et tronquée. Les épillets sont regroupés par trois dans chaque creux de l'axe de l'épi et serrés avec une glumelle inférieure longuement aristée. La fleur présente trois étamines et les stigmates sont directement portés par le carpelle. Le grain (caryopse) est ovale, poilu au sommet, adhérent aux glumelles à la base (Clerget, 2011).

Il y a une grande diversité d'orges cultivées. Les quatre principales espèces sont (Figure 3):

- la paumelle, aux grains disposés sur deux rangs dans l'épi : *Hordeum distichum* L.
- l'orge pyramidale, aux grains également disposés sur deux rangées qui est cultivée de façon plus localisée : *Hordeum zeocriton* L.

- l'orge carrée, dont les grains sont disposés sur quatre rangées et que l'on cultive presque partout en Europe : *Hordeum vulgare* L.

- l'orge à six rangs, dont les grains sont répartis sur six rangées dans l'épi : *Hordeum hexastichum* L. Elle est de moins en moins cultivée. C'était pourtant l'espèce ancestrale cultivée dans l'Antiquité dans le Croissant fertile.

**Paumelle : 2 rangées de grains dans les épis. Cultivée dans toute la France.**

**Orge pyramidale : 2 rangées de grains également. Cultivée çà et là, notamment en Normandie.**

**Orge carrée : grains sur 4 rangs. Cultivée dans toute la France.**

**Orge à six rangs : rare maintenant, mais c'était l'espèce cultivée dans l'Antiquité.**

**Quatre des principales espèces d'orge**





Paumelle = <i>Hordeum distichum</i> L.	Orge pyramidale = <i>Hordeum Zeocriton</i> L.
	
Orge carrée = <i>Hordeum vulgare</i>	Orge à six rangs = <i>Hordeum hexastichum</i> L.
	

Figure 3. Les principales espèces cultivées d'orge (Clerget, 2011).



### 1.2. Taxonomie des *Triticum* et *Hordeum*

D'après Chadefaud & Emberger (1960), Prats (1960) et Feillet (2000), l'orge cultivée, le blé tendre et le blé dur sont appartenus à la classification suivante (**Tableau I**) :

**Tableau I** : Classification du blé dur, blé tendre et d'orge

Classification	<i>Blé dur</i>	<i>Blé tendre</i>	<i>Orge</i>
<b>Règne</b>	Plantae(Règne végétale)	Plantae (Règne végétale)	Plantae
<b>Division</b>	Magnoliophyta (Angiospermes)	Magnoliophyta (Angiospermes)	Magnoliophyta
<b>Classe</b>	Liliopsida (Monocotylédons)	Liliopsida (Monocotylédons)	Liliopsida
<b>S/Classe</b>	Commelinidae	Commelinidae	Commelinidae
<b>Ordre</b>	Poale	Poale	Poale
<b>Famille</b>	Poaceae (ex Graminées)	Poaceae (ex Graminées)	Poaceae (ex Graminées)
<b>S/Famille</b>	Triticeae	Triticeae	Hordeoideae
<b>Tribu</b>	Triticeae (Triticées)	Triticeae (Triticées)	Hordeae (Hordées)
<b>S/Tribu</b>	Triticinae	Triticinae	Hordeinae
<b>Genre</b>	<i>Triticum</i>	<i>Triticum</i>	<i>Hordeum</i>
<b>Espèce</b>	<i>Triticum durum</i> Desf.	<i>Triticum aestivum</i> L.	<i>Hordeum vulgare</i> L.
<b>Variétés</b>	Bidi 17, GGR	FA, Mexipak	Saida 183, Manel

### 1.3. Cycle biologique.

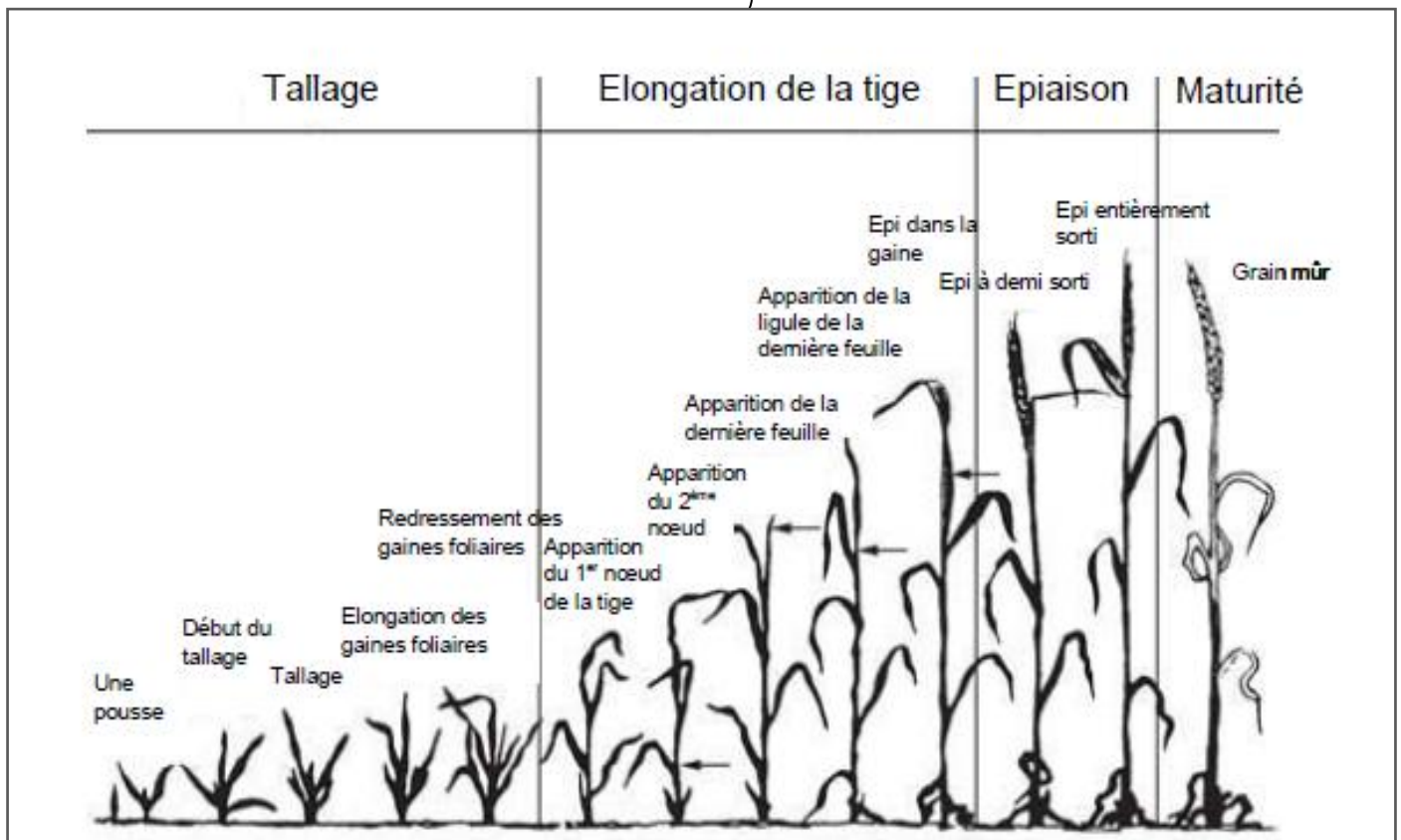
Le blé et l'orge sont des plantes annuelles herbacées, effectuant leur cycle biologique à travers trois grandes périodes (période végétative, période reproductrice et période de maturation). Les mécanismes végétatifs et reproducteurs de blé et d'orge de la germination à la maturation du grain sont identiques (Moule, 1980 ; Soltner, 2005). Les différences les plus marquées concernant l'orge sont :

- Une propension plus forte au tallage avec une paille creuse et souvent plus fragile ;
- Un cycle semis-maturité souvent plus court ;
- Une capacité de survie au froid n'atteignant généralement pas celle des blés (Gallais & Bannerot, 1992).

Ces phases sont marquées par plusieurs stades repères dont l'identification se fait essentiellement par repérage sur le maître brin (Baggiolini, 1952 ; Jonard *et al.*, 1952 ; Feekes, 1954 et Zadoks *et al.*, 1974).

Les différentes phases successives sont synthétisées et citées par Benlaribi *et al.* (2014). Elles sont schématisées dans la Figure 4 empruntée à Zadoks.

- |   |   |                          |
|---|---|--------------------------|
| 1) phase semis → levée                            | } | 1) période végétative    |
| 2) phase levée → début tallage                    |   |                          |
| 3) phase début tallage → début montaison          |   |                          |
| 1) phase formation des ébauches d'épillets (AB)   | } | 2) période reproductive  |
| 2) phase spécialisation florale (stade BD Jonard) |   |                          |
| 3) phase méiose fécondation (stade DF Jonard)     |   |                          |
| 1) phase de multiplication cellulaire             | } | 3) période de maturation |
| 2) phase de remplissage du grain                  |   |                          |
| 3) phase de dessiccation                          |   |                          |



**Figure 4.** Échelle de Zadoks décrivant le cycle de développement du blé (d'après Zadoks *et al.*, 1974).

#### **1.4. Production et importance du blé et de l'orge dans le monde et en Algérie.**

La production mondiale de tous les types de blés est de 729 millions de tonnes lors de la campagne 2014 c'est-à-dire près de 100 kg par habitant, pour l'ensemble de la population mondiale. En volume de production, c'est la quatrième culture mondiale derrière la canne à sucre, le maïs et le riz. Les statistiques mondiales sont calculées par le Conseil International des Céréales (Manifesto, 2010). En Algérie, le blé, est la première céréale cultivée dans le pays. Elle occupe annuellement plus d'un million d'hectares. La production nationale en blé dur est encore faible, elle ne couvre que 20 à 25 % des besoins du pays, le reste étant importé (OAIC, 2017). Cette faible productivité est elle-même due à des contraintes abiotiques (pluviométrie surtout), biotiques (adventices, surtout) et humaines (itinéraires techniques appliqués etc...) (Chellali, 2007).

Le blé est la céréale la plus employée dans l'alimentation de l'homme et des animaux (Cheftel.J.C & Cheftel.H, 1992). Les grains de blé dur donnent de la semoule pendant la mouture, cette semoule est valorisée dans la fabrication des pâtes alimentaires (Jeantet *et al.*, 2006). La consommation humaine (pain, biscuiterie et tous les produits à base de farine) reste le débouché principal (58 % de la récolte), suivie de l'alimentation animale (34 %). Les 8 % restants représentent les usages industriels (amidonnerie et glutennerie). Le blé peut également servir de substrat pour produire du biocarburant, le bioéthanol. Il est également utilisé pour alimenter des chaudières.

En ce qui concerne l'orge, sa production mondiale en 2014 s'est élevée à 144 millions de tonnes pour une surface emblavée de 49,5 millions d'hectares, soit un rendement moyen de 29,1 quintaux par hectare (source : FAO, juillet 2018), et Selon les prévisions de rendements des cultures de l'UE et de certains pays de l'Afrique du Nord à l'aide de la télédétection, les prévisions de rendement en Algérie sont de 1,46 tonnes/ha et 1,16 tonne/ha pour l'orge.

L'orge, céréale secondaire, est une importante ressource énergétique en alimentation animale (orge de mouture) mais pauvre en protéines elle demande à être complétée. L'orge est réputée pour favoriser une bonne digestion et pour son apport en fibres, vitamines du groupe B, sélénium, phosphore, fer, zinc, cuivre et magnésium. Elle contient huit acides aminés essentiels et a une action favorable sur le taux de sucre dans le sang, le cholestérol et la flore intestinale. Au niveau mondial, son utilisation se répartit entre l'alimentation animale (55 à 60 %), la production de malt (30 à 40 %), l'alimentation humaine (2 à 3 %) et la production de semences (5 %) (Steven , 2010).

## 2. Les stress environnementaux

### 2.1. Notion de stress, ses facteurs chez les plantes

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

On désigne par stress, toute condition externe qui affecte la croissance, le développement ou la productivité d'une plante. On rencontre les stress biotiques (causés par d'autres organismes) et les stress abiotiques (se présentant à chaque fois qu'il y a un **excès** ou un **déficit** dans l'environnement physique ou chimique de la plante). Le stress aussi bien biotique qu'abiotique, peut réduire la productivité des plantes de 65% à plus de 87% (Gardner *et al.*, 2017).

Les plantes sont soumises à un certain nombre de facteurs de stress délétères pour leur croissance et leur survie. Les facteurs de stress issus de l'environnement sont multiples et sont de deux natures différentes :

- **Biotique:** causés par des organismes vivants : Virus, Bactéries, Insectes (Figure 5).....etc.
- **Abiotique:** causés par l'environnement : Chaleur, gel , sécheresse, salinité, manque de lumière, excès d'irrigation, froid , changements brusques de température Présence de métaux lourds, Blessure , le rayonnement solaire, les carences nutritives, le vent ou verse (Figure 5/6)....etc.

Ces facteurs conduisent à différentes réactions de la part des plantes. Cependant, chaque facteur de stress conduit à des mécanismes spécifiques. Lors du stress l'identification en détails de ces signalisations ainsi que des réseaux impliqués sont essentielles pour mieux comprendre les réactions de résistance de la plante face à son environnement.

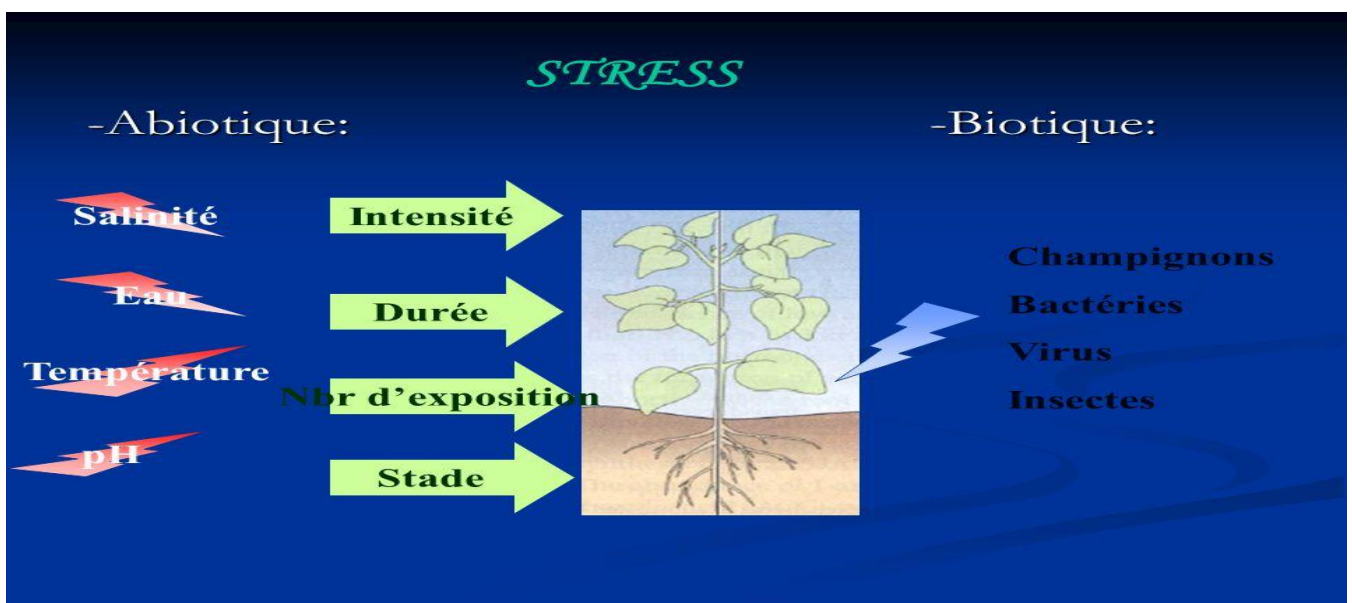
## 2.2. Différents stress environnementaux.

Levitt (1972) définit le stress abiotique comme étant un facteur environnemental susceptible de déclencher chez les plantes des modifications chimiques ou physiques dommageables. Ces modifications représentent la contrainte qui peut être plastique ou élastique. Autre définition susceptible de prêter à confusion : La contrainte est la condition environnementale défavorable à la croissance.

Il est important de noter qu'une condition biologique qui est un stress pour une plante peut être une condition optimale pour une autre donc il faut :

=> Définir les caractéristiques du stress : intensité, durée, nombre d'exposition, combinaison de stress (Figure 5)...

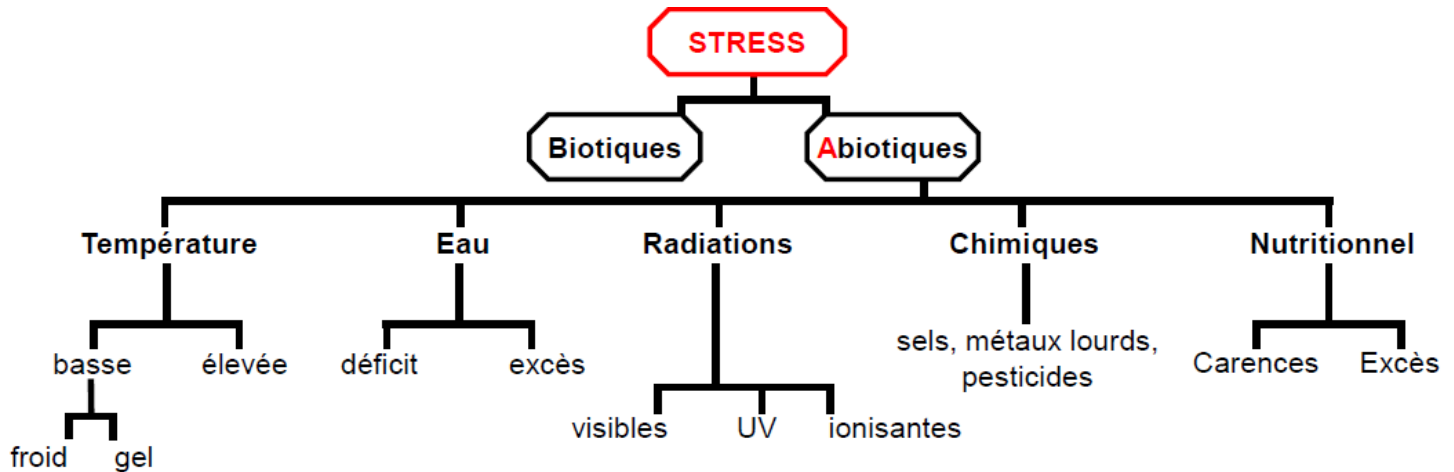
=> Définir les caractéristiques de la plante : stade de développement, génotype, organe/tissu (Figure 5).



**Figure 5.**Caractéristiques de définition d'un stress (biotique et abiotique)

Parmi les conditions environnementales qui peuvent causer un stress abiotique, on distingue : les inondations, la sécheresse, les basses ou hautes températures, la salinité excessive des sols ou des eaux, la présence d'un minéral inadéquat dans le sol, cas des métaux lourds, l'excès de lumière qui stimule la photo inhibition, le cas de faible éclaircissement, les radiations UV, les composés phytotoxiques comme l'ozone qui est un haut réacteur oxydant, la pollution de l'air, les produits oxydes formes a partir des réactions de pesticides (Figure 6).

La sécheresse, le froid et la salinité sont les stress les plus fréquents et les plus étudiés. Ils peuvent imposer aux plantes des modifications métaboliques, physiologiques et phénologiques.



**Figure 6.** Stress/Contraintes abiotiques (<http://sites.unice.fr/EB/>) [Centre INRA de Sophia Antipolis, 2010].

### 2.3. Le stress hydrique et terminologie de la sécheresse

#### 2.3.1. Rôle et Importance de l'eau chez la plante

L'eau est un composé essentiel de la plante, tant du point de vue quantitatif que qualitatif. Elle représente 80 à 90 % du poids frais de la majorité des plantes herbacées. Dans les cellules matures (cellule du parenchyme foliaire, cellules des tiges, cellules racinaire) elle est essentiellement contenue dans les vacuoles où elle est retenue par des forces osmotiques (Gardner *et al.*, 2017). L'état hydrique de la plante, qui peut être caractéristique par la teneur en eau ou le potentiel des tissus foliaires, influence un certain nombre de processus physiologique :

- La croissance cellulaire ne peut être assurée que si le potentiel hydrique est supérieur à un potentiel hydrique critique
- Les mécanismes d'ouverture et de fermeture stomatique sont directement liés à la teneur en eau dans la plante, précisément à la turgescence des cellules stomatiques.

Pour une graine, son imbibition et sa germination sont directement liés à sa capacité à être en contact continu avec de l'eau, ceci explique, en partie, la nécessité d'avoir un sol humide sous la graine pour avoir une levée homogène. 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).

L'eau distribuée en continue dans la plante joue le rôle de solvant (milieu de transport de tous les composés minéraux et organiques de la plante) et le rôle de réactant. Comme agent d'hydrolyse, l'eau participe activement aux réactions du métabolisme et en particulier aux réactions photosynthétiques. En effet, la photolyse de l'eau est le point de départ des réactions lumineuses de la photosynthèse et à ce niveau s'effectue un premier couplage essentiel entre flux hydrique et flux carbonés (Laberche, 2004).

### **2.3.2. La sécheresse**

La sécheresse est un événement météorologique souvent défini en termes relatifs (Turner, 2003). Dans les régions tempérées du monde, une sécheresse peut s'étendre pour une période dépassant les deux semaines sans précipitation. Alors que dans les régions semi-arides avec des saisons sèches et humides clairement définies, la sécheresse est généralement définie comme une absence de précipitations pour une période assez longue capable de causer un épuisement de l'humidité du sol et un endommagement de la production agricole. La sécheresse agricole dépend des conditions atmosphériques comme la température et le VPD (Vapour Pressure Deficit, déficit de vapeur en eau de l'air). Ces conditions affectent le taux de transpiration des végétaux et l'évaporation du sol, la profondeur et la capacité de rétention d'eau dans le sol et les caractéristiques des plantes comme le stade de croissance et la densité des semis.

#### **2.3.2.1. Notion de déficit hydrique**

Un déficit hydrique exprime la différence cumulée entre l'évapotranspiration potentielle et les précipitations pendant une période où ces dernières sont inférieures à la première. Généralement, les averses brutales viennent compenser un déficit hydrique. Un déficit en eau du sol est un indice de mesure qui permet de faire la différence entre la capacité d'un champ, d'un sol, et son taux d'humidité réel. Il envisage la possibilité de subir des inondations.

Un déficit hydrique profond amène une sécheresse du sol, Lorsqu' il dure longtemps, trop longtemps pour les êtres vivants, une sécheresse, peut donner un désert comme résultat, final ou temporaire. Car ce phénomène concerne l'évaporation de l'eau (ou évapotranspiration) à la surface du sol pédologique, affaiblissant la biodiversité de l'écosystème biologique, et conduisant à la mort des espèces y vivant. En biologie, le déficit hydrique, mesuré par un bilan hydrique, se traduit par une dessiccation des cellules (Gravot, 2009).

En effet, on assiste à un déficit hydrique lorsque la demande en eau dépasse la quantité disponible pendant une certaine période ou lorsque sa mauvaise qualité en limite l'usage (Madhava Rao *et al.*, 2006).

### 2.3.2.2. Stress hydrique chez les végétaux

Nous ne traiterons pas ici des stress associées aux inondations (excès d'eau), la notion de stress hydrique renvoie en réalité le plus souvent au **stress de carence hydrique** (Gravot, 2009).

On peut distinguer deux types de stress de carence hydrique :

- la carence associée à défaut d'alimentation au niveau racinaire, causée par une sécheresse ou par la composante osmotique d'une contrainte saline
- la carence liée à une forte perte d'eau au niveau foliaire, causée par la chaleur, le vent une faible humidité relative, un défaut de régulation de la fermeture des stomates causé par une infection par un pathogène...

Le stress hydrique est toute restriction hydrique, qui se traduit par une baisse de potentiel de la plante suite à une perturbation de son activité physiologique, provoquée par un déficit de consommation en eau et communément appelé stress hydrique (Mouhouche & Boulassel, 1997). Il se traduit par la déshydratation et la fanaison, quand l'absorption d'eau est réduite par un dessèchement du sol ou par une résistance racinaire importante causée par une basse température ou par une aération déficiente, on observe une perte de turgescence dans les feuilles causée par une chute de potentiel hydrique. Cela entraîne la fermeture des stomates. Par conséquent, l'augmentation de la résistance sol racine entraîne indirectement une réduction du taux de transpiration en accroissant la résistance stomatique (Hobilalaina, 2009).

Cela peut se marquer par un retard de croissance des organes érigés exposés à un air très sec : si les racines sont maintenues dans un sol relativement humide, il y aura déséquilibre entre le flux d'eau transporté et les quantités vaporisées. La baisse d'hydratation du sol limite la croissance des racines et restreint la disponibilité en eau ; le déficit en eau est accru par la salinité du sol et par une transpiration élevée (Hobilalaina, 2009).

### 2.3.2.3. La résistance à la sécheresse

La résistance à la sécheresse est définie comme étant la capacité d'une espèce de survivre et de croître dans un milieu soumis à la contrainte hydrique (Yoshida, 1975). Du point de vue agronomique : c'est la capacité d'une plante à minimiser les pertes de rendements, les variétés qui montrent une stabilité maximale sont considérées résistantes à la sécheresse. Cette notion



est perçue d'un point de vue physiologique comme étant la capacité d'une plante à maintenir sa croissance durant la période sèche et à reprendre rapidement lorsque la contrainte hydrique est levée (Sinha *et al*, 1985).

Pour le sélectionneur, la résistance d'une plante cultivée est liée à sa capacité à être plus productive avec une quantité d'eau donnée qu'une autre (Quisenberry *et al.*, 1981).

L'ensemble de ces définitions se réfèrent à des échelles de temps différents dans la vie de la plante mais elles visent la productivité. On peut donc définir la résistance à la sécheresse comme étant l'ensemble des mécanismes causant le minimum de perte de rendement en conditions sèches par rapport au rendement maximal.

#### **2.3.2.4. Stratégies de résistance développées par la plante en réponse à un manque d'eau**

Le transport de l'eau du sol vers l'atmosphère, à travers la plante se réalise sous le gradient de potentiel hydrique. Induit par les pertes d'eau, par la transpiration. Cette dernière engendre un déficit hydrique dans la plante. Cependant l'eau n'est pas toujours disponible et les pertes par évaporation sont plus importantes que l'absorption par les racines.

Dans ce cas certaines espèces végétales présentent différents comportements, qui permettent de réduire les effets néfastes du déficit hydrique aux quelles elles sont confrontées, selon leurs réactions au déficit hydrique, Levitt. (1980) classe les espèces végétales en deux groupes :

- ❖ Celles qui échappent aux conditions de sécheresse et ne développent aucun mécanisme de résistance.
- ❖ Celle qui résistent à la sécheresse en développant des mécanismes, leurs permettant d'éviter ou de tolérer la déshydratation.

Donc la tolérance à la sécheresse est un caractère complexe. Différentes stratégies et mécanismes d'adaptation permettant d'assurer une production sous l'effet de la sécheresse ont été identifiés. Classiquement, ces stratégies ont été regroupées en trois catégories à savoir l'échappement ou l'esquive, l'évitement et la tolérance (Levitt, 1972). Pourtant, ces stratégies ne sont pas mutuellement exclusives. En effet, les plantes peuvent combiner tout un ensemble de réponses (Ludlow, 89). (Figure 7).

##### **. L'esquive (l'échappement)**

C'est la capacité de la plante d'échapper aux périodes de sécheresse en particulier durant les stades où la plante ne peut pas subir directement de contrainte hydrique en réalisant son cycle en dehors des périodes sèches. Ce mécanisme n'est pas systématiquement considéré

comme une véritable forme d'adaptation (De Raissac, 1992). Cette stratégie implique un développement phénologique rapide avec une floraison et une maturité précoces (figure 7), une plasticité de développement se traduisant par la variation dans la durée des périodes de croissance qui dépend du degré du déficit hydrique, et une remobilisation des assimilés aux fruits. Cette réponse est bien documentée aussi bien pour les céréales (Bruce *et al.*, 2002) et certaines légumineuses (Rodrigues *et al.*, 1995). La capacité de mobiliser les réserves s'accroît chez les plantes stressées (Yang *et al.*, 2001).

### **. L'évitement**

Consiste, pour la plante à maintenir un état hydrique interne satisfaisant en présence d'une contrainte hydrique externe dont les principales manifestations et conséquences sont résumées dans la (Figure 7). Pour éviter la sécheresse, la plante effectue son cycle végétatif en dehors des périodes de sécheresse qui pourraient interférer de façon significative avec le rendement (Levitt, 1980).

Dans le cas de la contrainte hydrique par exemple, la mise en place d'une stratégie d'évitement consiste à inscrire le cycle à l'intérieur d'une période au cours de laquelle les potentiels initiaux (sol) et finaux (atmosphère) du continuum sol-plante-atmosphère sont élevés et permettent d'éviter une baisse du potentiel hydrique de la plante (Levitt, 1980). Ce mécanisme est commun aux plantes annuelles et pérennes et il est associé avec une variété des traits adaptatifs, à savoir une minimisation des pertes d'eau et une maximisation de l'absorption d'eau. La perte d'eau est minimisée par la fermeture stomatique (Figure 7) ; la réduction d'absorption de la lumière à travers les feuilles enroulées (Ehleringer & Cooper, 1992), une dense lame de trichome augmentant ainsi la réflectance (Larcher, 2000), ou encore des angles foliaires raides ; ou par la réduction de la surface foliaire à travers une croissance réduite ou une chute des feuilles âgées.

L'absorption d'eau est maximisée par un ajustement (Figure 7) de l'allocation (Chaves *et al.*, 2003). Autrement dit, un investissement élevé au niveau des racines (Jackson *et al.*, 2000). Dans les régions semi-arides, les gains significatifs de la productivité des cultures résultent d'un enracinement profond (Blum, 1989). Encore, la chute des feuilles âgées qui contribue à une économie d'eau, peut être considérée comme un programme de recyclage à l'intérieur de la plante, permettant la réallocation des nutriments stockés au niveau des feuilles âgées plus qu'aux jeunes feuilles.

## **. La tolérance**

Selon Leclerc (1999), si l'évitement ou l'esquive ne sont pas possible, il faut faire face et résister ce qui n'est faisable que dans certaine limite. Les mécanismes de la tolérance permettent à la plante d'assurer normalement ses fonctions physiologiques malgré une dégradation de son état hydrique interne suite à la sécheresse, ses mécanismes favorisent le maintien de la turgescence (Figure 7) de la plante alors que son potentiel est très négatif, rendu possible grâce à l'ajustement du potentiel osmotique pouvant être réalisé par l'accumulation d'ions minéraux et des composés organiques (sucres solubles, proline) (De Raissac, 1992).

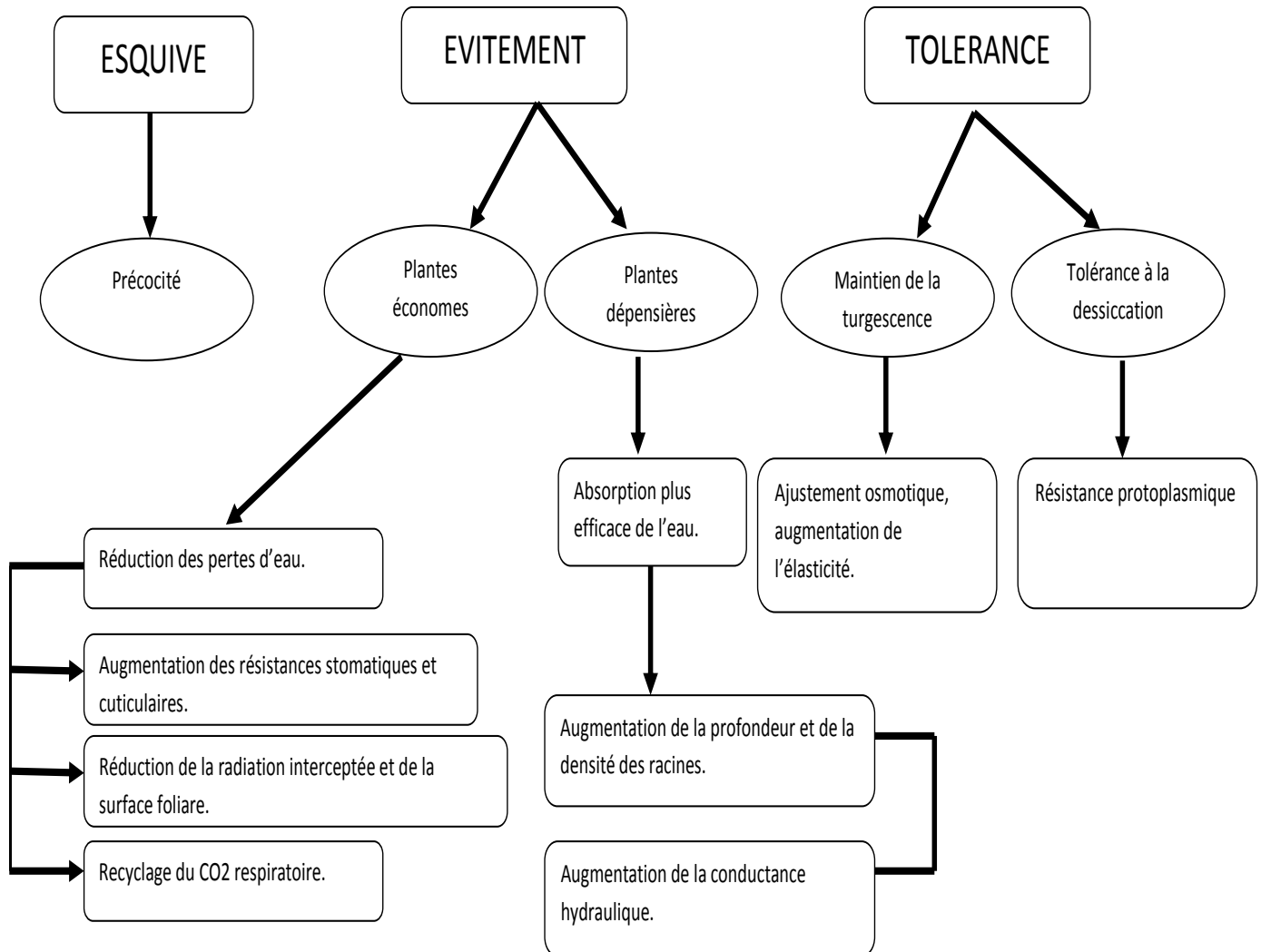
D'autres mécanismes peuvent aussi intervenir dans la tolérance à un potentiel hydrique bas, c'est l'augmentation de l'élasticité membranaire (Figure 7), la réduction de la taille des cellules et la résistance protoplasmique qui dépendent de la capacité des cellules à résister à un dommage mécanique et à la dénaturation des protéines au niveau membranaire ou cytoplasmique. (De Raissac, 1992).

En matière d'adaptation et de résistance au stress hydrique, Leclerc (1999) rapporte qu'il apparait dans les plante des caractères d'adaptation des structures ou des molécules : adaptation de structures membranaires, stabilisation cytoplasmique par la synthèse des protéines spéciales, changement d'activité pyroxydase, accumulation d'antioxydants (acide ascorbique) des substances osmotiquement active (polyols, proline, bétaine) ou des métabolites secondaires intervenant dans de nombreux processus de défense. (Anthocyanes, flavonoïdes variés) des hormones dites de détresse (ABA, acide jasmonique).

Parmi les métabolismes de résistance nous citons :

- La tolérance à la dessiccation : elle correspond à une capacité de la membrane cytoplasmique de retenir les électrolytes, donc de conserver son intégrité en cas de dessiccation.
- Maintien de la translocation.

- L'ajustement osmotique (osmorégulation) : caractériser par une diminution du potentiel hydrique, et par un maintien du potentiel de turgescence. L'ajustement du potentiel osmotique peut être réalisé par l'accumulation d'ions minéraux (vacuole) et de composés organiques (sucre solubles, proline....).



**Figure 7.** Mécanismes de réponse à la sécheresse des plantes (Madjori, 2006).

Ces stratégies diffèrent quant à leurs conceptions, mais elles ont toutes un coût en terme de rendement final pour la plante (Tardieu *et al.*, 2006). Par conséquent, l'adaptation des plantes à la sécheresse doit refléter un équilibre entre l'échappement, l'évitement et la tolérance afin de maintenir une productivité adéquate (Mitra, 2001).

### 2.3.2.5. Influence du stress hydrique sur les plantes et le rendement des céréales en particulier.

Le stress hydrique affecte les végétaux et cause des modifications d'ordre phénologiques, morphologiques et physiologiques. Un stress hydrique se traduit par une réduction de la croissance de la plante et de sa production par rapport au potentiel du génotype (Benkhokha, 2007). Quand il est précoce, il affecte en parallèle la croissance des racines et des parties aériennes, le développement des feuilles et des organes reproducteurs (Debaeke *et al.*, 1996).

Le déficit hydrique peut engendrer des pertes de rendement à n'importe quel stade de développement des céréales, son effet sur les composantes de la plante et par conséquent sur le rendement, dépend du stade au cours duquel ce déficit survient (Debaeke *et al.*, 1996). Chez le blé dur (*Triticum durum*), en région méditerranéenne, la sécheresse est une des causes principales des pertes de rendement, qui varient de 10 à 80% selon les années (Nachit *et al.*, 1998). La sécheresse de début de cycle coïncide avec le démarrage de la culture (levée, tallage) et celle de fin du cycle, qui est la plus fréquente affecte le remplissage des grains (Watts & El Mouride, 1988). Le rendement en grains chez le blé dépend fortement du nombre de grains par épi, du poids de grains par épi et du nombre d'épis par m<sup>2</sup>. Le tallage est l'un des principaux facteurs déterminant le rendement en grains chez les céréales (Hucl & Baker, 1989). Une carence hydrique précoce durant la phase végétative réduit le nombre et la taille des talles chez le blé (Davidson & Chevalier, 1990).

Un déficit hydrique à la montaison se traduit par la chute du nombre d'épis par m<sup>2</sup>, la régression intense des tailles et la baisse du nombre de grains par épi (Debaeke *et al.*, 1996). À la fin de la montaison, 10 à 15 Jours avant l'épiaison, la sécheresse réduit le nombre de fleurs fertiles par épillet (Debaeke *et al.*, 1996). Le manque d'eau après la floraison, combiné à des températures élevées, entraîne une diminution du poids de 1000 grains par altération de la vitesse de remplissage des grains et de la durée de remplissage (Triboï, 1990). Ainsi, le risque de stress hydrique est possible presque durant tout le cycle biologique de la céréale. Par ailleurs et pour bien se développer, la plante doit disposer de mécanismes et stratégies d'adaptation qui lui permettent de supporter le stress hydrique.

### 3. Étude de l'adaptation aux conditions déficitaires

#### 3.1. Les différentes approches dans l'étude de l'adaptation à la sécheresse des céréales et la sélection de variétés tolérantes.

D'après Monneveux (1991) il ya trois approches :

- **Approche empirique.**

Elle a été utilisée jusqu'ici par les sélectionneurs et prend vu, à privilégier les caractères phénologiques d'adaptation et en particulier la précocité. Elle a permis des résultats substantiels, mais elle implique la mise en place d'essai multi locaux répétés comme outil principal de recherche, et l'étude des interactions génotype x milieu comme facteur explicatif. Il s'agit d'une approche descriptive dans le sens ou elle s'intéresse essentiellement aux rendements obtenus dans les essais, le fonctionnement de la plante et du peuplement végétal.

- **Approche synthétique ou multi caractères.**

Cette approche est basée sur le constat de la difficulté, pour le sélectionneur, d'identifier et de caractériser le génotype à travers une observation du phénotype. La précision de cette caractérisation diminue en effet avec l'augmentation de la complexité du caractère et devient donc extrêmement faible pour des caractères très complexes comme le rendement. Sur la base de ce constat, l'approche synthétique tente de définir des combinaisons de traits et de sélectionner sur cette base pour maximiser la productivité et/ou améliorer la stabilité du rendement (Tableau II).

**Tableau II.** Les principales étapes de la démarche synthétique ou multi caractères (Monneveux, 1991).

Étapes	Démarche
<b>Étape 1 :</b>	Essai de définition du milieu (environnement, techniques) et de quantification des contraintes et essai de quantification de la tolérance aux contraintes.
<b>Étape 2 :</b>	Identification et description des traits idéotypiques (paramètres morpho physiologiques d'adaptation intervenant dans la tolérance au déficit hydrique et dans l'efficacité de l'eau.
<b>Étape 3 :</b>	Essai de corrélation des paramètres d'adaptation avec les rendements obtenus dans des milieux à forte contrainte hydrique ou avec un index de tolérance au déficit hydrique.
<b>Étape 4 :</b>	Evaluation de la variabilité de ces paramètres, à l'intérieur d'ensembles comportant un grand nombre de génotypes d'origines variées.
<b>Étape 5 :</b>	Vérification de la validité du choix de ces paramètres, à travers des expériences de sélection indirecte multi paramètres et /ou de sélection divergente.

- **Approche analytique explicative.**

Un troisième type d'approche, est l'approche analytique explicative. Cette méthode consiste à étudier un mécanisme d'adaptation donné lié à un paramètre morphologique ou physiologique d'adaptation. Elle est analytique dans le sens d'isoler le mécanisme et à l'étudier individuellement, et explicative dans la mesure où elle cherche à comprendre et à expliquer les phénomènes biochimiques ou biophysiques qui sont à la base des mécanismes de tolérance ou de résistance (Tableau III).

Cette approche s'adresse surtout aux niveaux cellule, organe et plante même si l'intégration entre ces différents niveaux n'est pas toujours aisée, et elle permet d'évaluer le rôle de caractères individuels comme de combinaison de caractères dans des groupes génétiques variés. Elle donne une information sur l'héritabilité des caractères et permet de comparer l'efficacité de la sélection basée sur le rendement et celle de la sélection basée sur les caractères morpho physiologiques.

**Tableau III.** Essai de schématisation d'une recherche analytique (Monneveux, 1991).

<b>Fonctions larges</b>	<b>Paramètres morpo physiologiques concernés</b>	<b>Techniques d'étude</b>
Absorption de l'eau.	Caractères d'enracinement (volume, masse, profondeur, ramification.....).	Mesures in situ ou en cultures aéroponiques.
Osmorégulation.	-mesures du potentiel hydrique. -mesures de potentiel osmotique. -études d'élasticité membranaire. -dosage d'osmoticum (proline, sucre solubles).	Psychrométrie, osmométrie.
Transpiration.	-transpiration cuticulaire (rôle des cires, de la glaucescence). -transpiration stomatique.	-pertes d'eau, études micro morphologiques de la feuille, porométrie....
Photosynthèse sous contrainte hydrique.	-effets stomatiques. -effets non stomatiques.	-mesures d'échanges gazeux. -fluorescence.

### 3.2. Ordres et mécanismes d'adaptation des plantes face au stress hydrique

Pour lutter contre le manque d'eau, les plantes développent plusieurs stratégies adaptatives qui varient en fonction de l'espèce et des conditions du milieu (Turner, 1986). La résistance globale d'une plante au stress hydrique apparaît comme le résultat de nombreuses modifications phénologiques, anatomiques, morphologiques, physiologiques, biochimiques et

moléculaires (Figure 8) qui interagissent pour permettre le maintien de la croissance, du développement et de production (Hsissou, 1994).

### **3.2.1. Adaptation phénologique.**

Le développement harmonieux d'une plante ne peut se réaliser que si la couverture de ses besoins hydriques est assurée durant tout son cycle végétatif. Pour éviter les périodes difficiles pour la croissance et le développement, certaines variétés accomplissent leur cycle de développement avant l'installation de stress hydrique (Figure 8).

La précocité constitue donc un important mécanisme d'évitement au stress hydrique de fin de cycle (Ben Naceur *et al.*, 1999). Dans ces conditions, les paramètres phénologiques d'adaptation ou paramètres de précocité définissent le calage du cycle vis-à-vis des contraintes environnementales (Ben Naceur *et al.*, 1999). La précocité (Figure 8) assure une meilleure efficacité de l'utilisation de l'eau. En produisant la biomasse la plus élevée, les génotypes à croissance rapide et à maturité précoce utilisent mieux l'eau disponible et ils sont moins exposés aux stress environnementaux que les génotypes tardifs (Bajji, 1999).

En effet, les variétés qui ont une vitesse de croissance élevée ont la capacité de mieux utiliser les sources nutritives à la fin du cycle de développement lorsque celles-ci deviennent limitantes (Poorter, 1989). La précocité de l'épiaison peut donc être utilisée comme critère de sélection pour améliorer la production dans les zones sèches. C'est l'un des traits les plus importants dans l'adaptation des plantes au stress hydrique (Ben Salem *et al.*, 1997).

### **3.2.2. Adaptation morphologique.**

Les caractères morphologiques et physiologiques d'une plante sont étroitement liés, à la morphologie racinaire, l'absorption de l'eau, la transpiration...etc. par conséquent, quand la plante est sujette à des contraintes environnementales, ces caractères s'influencent automatiquement et leur perturbation se traduit au niveau morphologique (Monneveux & This, 1997). L'influence du déficit hydrique sur les caractères morphologiques est presque limitée sur la croissance, le rendement et ses composantes (Figure 8).

L'effet du stress hydrique peut se traduire, selon la stratégie adaptative de chaque espèce ou génotype, par des modifications morphologiques pour augmenter l'absorption d'eau et pour diminuer la transpiration et la compétition entre les organes pour les assimilés. Ces modifications affectent la partie aérienne ou souterraine (Bajji, 1999). Lefebvre (2005) constate que, le stress hydrique influe sur les caractéristiques physiques de la plante tel que : le diamètre de la tige, la diminution de la surface foliaire et même de la teneur en eau des feuilles. Debeake



*et al.* (1996) notent qu'un stress hydrique marque la sénescence des feuilles et réduit la surface foliaire après la floraison. Gate *et al.* (1993) considèrent que la feuille est l'organe le plus sensible au manque d'eau, et ceci se traduit par un changement de forme et/ou d'orientation de l'organe.

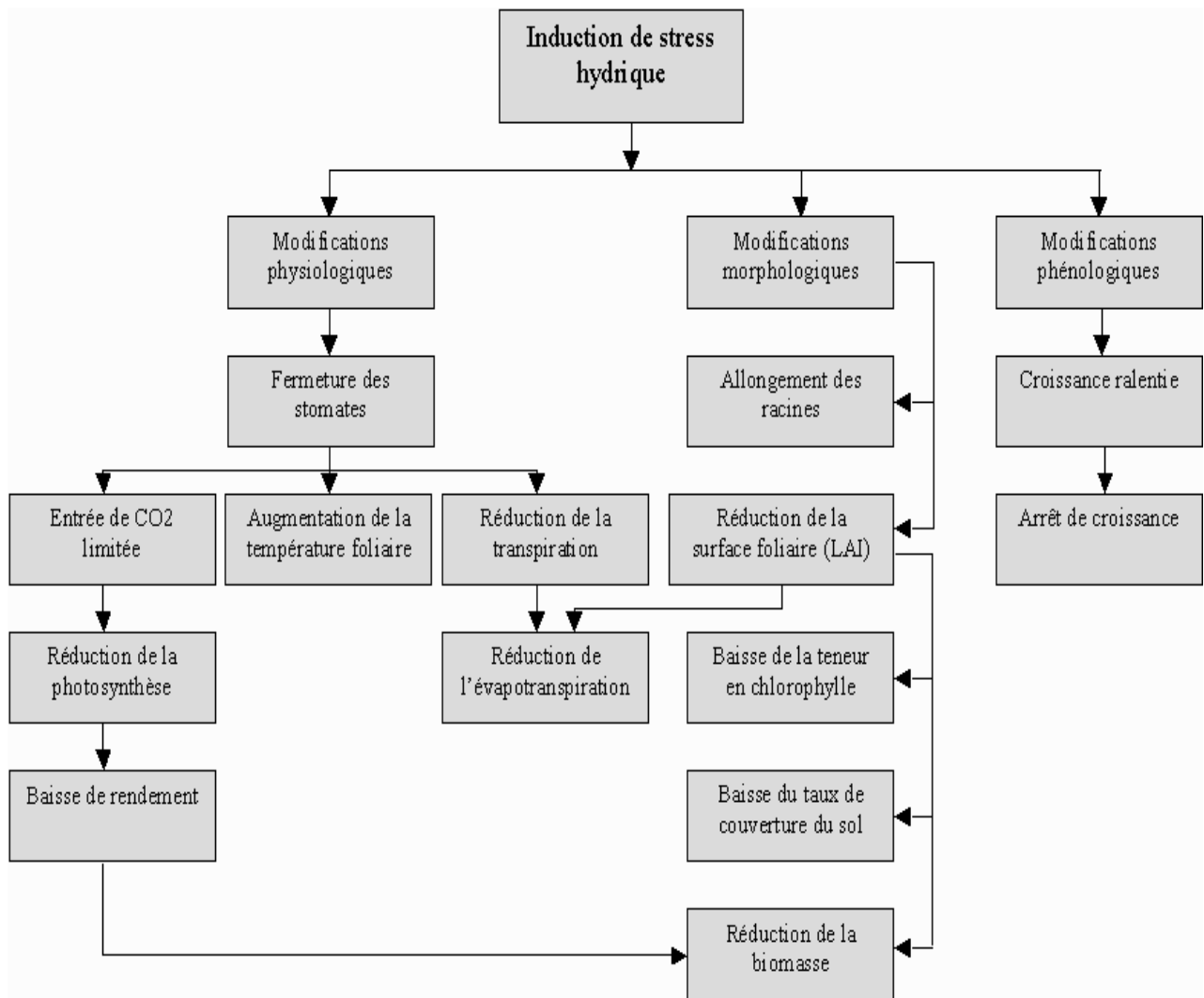
Chez le blé, l'enroulement des feuilles chez certaines variétés peut être considéré comme un indicateur de perte de turgescence en même temps qu'un caractère d'évitement de la déshydratation, il entraîne une diminution de 40 à 60 % de la transpiration (Amokrane *et al.*, 2002). La hauteur de la plante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

### **3.2.3. Adaptation physiologique.**

L'adaptation se traduit, en réponse à la contrainte, par une succession de modifications aux niveaux cellulaire, sub-cellulaire et moléculaire qui sont dépendantes des potentialités génétiques de l'espèce (De marly, 1984). Les réorientations métaboliques induites aboutissent à des transformations morphologiques et physiologiques déterminant une résistance plus ou moins achevée et efficace de l'individu à la contrainte.

Les capacités de tolérance rencontrées dans de nombreuses espèces révèlent des particularités correspondant à des mécanismes de régulation physiologiques tendant également à maintenir (Figure 8) :

- le potentiel photosynthétique, par une dissociation des réponses photosynthétique et transpiratoire à la contrainte, permettant d'augmenter l'efficacité de l'eau. C'est ainsi que les plantes à métabolisme photosynthétique en C4 se trouvent avantagées par rapport aux plantes en C3 (Osmond *et coll.*, 1980).
- le taux de synthèses protéiques pendant la contrainte, ou à supporter la perte des protéines grâce à la mise en place de processus de réparation rapide lors de la réhydratation (Levitt, 1980; Bewley, 1981).



**Figure 8.** Conséquences du stress hydrique sur la plante (Kotchi, 2004)

D'après Gravot (2009) Les désordres cellulaires (« strain ») liés directement à la perte d'eau sont :

- la déstabilisation de complexes macromoléculaires, en particulier au niveau des structures membranaires.
- la perte de turgescence et ses conséquences négatives sur la capacité d'extension cellulaire.

On peut distinguer des mécanismes d'acclimatation survenant sur :

- Quelques minutes : Fermeture des stomates.
- Quelques heures : Accumulation de solutés compatibles
- Quelques jours :
  - ✚ modification de l'architecture foliaire et racinaire
  - ✚ Modulation de la plasticité pariétale

- ✚ Mobilisation des ressources : feuilles → racines ou fructifications. Le stade phénologique de remplissage des graines est généralement un stade très sensible à la contrainte hydrique, puisque la croissance racinaire est souvent défavorisée au détriment de la maturation des graines. Ceci a pour conséquence d'empêcher l'accès racinaire à des zones du sol plus humides.
  
- ▶ La fermeture des stomates va entraîner des contraintes secondaires :
  - Augmentation de  $T^{\circ}$  foliaire
  - Carences minérales liées à un défaut d'absorption et de translocation
  - Baisse de la disponibilité en  $CO_2$ 
    - ✚ Impact sur le cycle de Calvin
    - ✚ Accumulation d'intermédiaires réduits dans les CTE → Photoinhibition → stress oxydatif au niveau des photosystèmes.
  
- ▶ La perte d'eau cellulaire (diminution du contenu relatif en eau dans les tissus) si elle se produit va également entraîner des contraintes secondaires :
  - Accumulation incontrôlée d'espèces actives de l'oxygène → dégradation de macromolécules (protéines, membranes, ADN..) par oxydation.
  
- ▶ On peut citer certaines adaptations permettant la tolérance à ces contraintes secondaires :
  - Evitement de la baisse de disponibilité en  $CO_2$  → Métabolisme C4 et CAM.
  - Enzymes thermotolérantes.
  
- ▶ On peut citer également quelques mécanismes d'acclimatation permettant la tolérance à ces contraintes secondaires :
  - Dissipation de l'énergie lumineuse.
    - ✚ Dissipation thermique : dissipation de chaleur par le cycle des xanthophylles (mécanismes complexes et mal compris)
    - ✚ Dissipation chimique
      - Consommation d' $e^-$  par le cycle de Mehler = « cycle water/water »
      - Consommation de NADPH par la photorespiration
  - Limitation des conséquences cellulaires du stress oxydatif
    - ✚ Synthèse d'antioxydants et d'enzymes antioxydantes
    - ✚ Protéolyse / néosynthèse de protéines et lipides dégradés

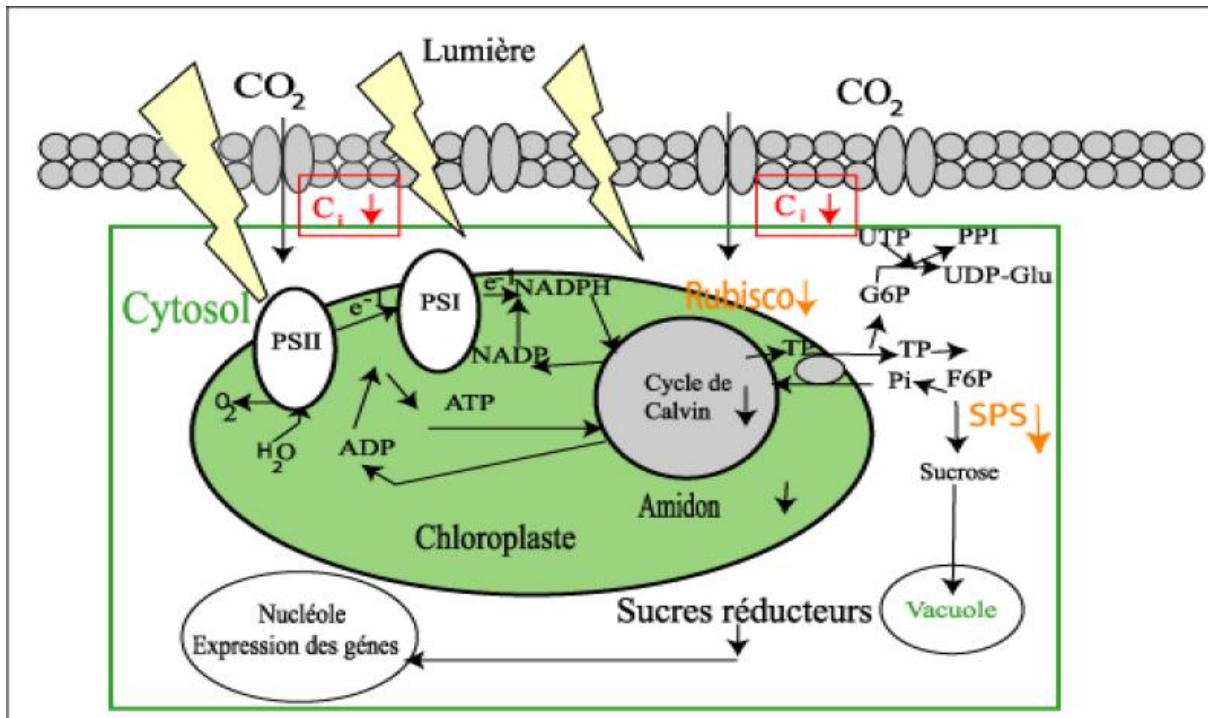
- Principaux acteurs signalétiques des réponses d'acclimatation
  - ✚ Réponses dépendant de l'acide abscissique + réponses indépendantes de l'ABA
  - ✚ Calcium, canaux ioniques et transporteurs membranaires, protéines phosphatases et protéines kinases
  - ✚ Facteurs de transcription : AREB et DREB
- Régulations transcriptionnelles
  - ✚ Biosynthèse de l'ABA
  - ✚ Synthèse et transport de solutés
  - ✚ Synthèse de protéines LEA

### **3.2.3.1. La capacité photosynthétique et conséquences du stress hydrique sur la photosynthèse.**

La photosynthèse apparaît comme la fonction inverse de la respiration. La respiration est l'oxydation des composés organiques en présence d'O<sub>2</sub> qui se traduit par la libération de CO<sub>2</sub>. La photosynthèse se manifeste à la lumière par une prise de CO<sub>2</sub> (carbone inorganique), la synthèse de matière organique et un rejet de dioxygène. De la photosynthèse et de la respiration résultent un cycle pour le carbone et un cycle pour l'oxygène qui sont antiparallèles. Il faut rappeler que les organismes photosynthétiques respirent également ; la respiration restant la principale source énergétique la nuit.

Malgré la nature et le rythme des limitations que le déficit hydrique impose sur l'assimilation du carbone foliaire est encore sous débat (Tezara *et al.*, 1999 ; Lawlor & Cornic, 2002 ; Flexas *et al.*, 2004b), il est généralement accepté que, sous conditions de champ ; la diminution dans la photosynthèse observée en réponse à un déficit hydrique modéré atmosphérique et /ou du sol (teneur en eau relative entre 70% et 75%) est initialement due à la fermeture stomatique (Chaves *et al.*, 2003).

Sous déficit hydrique modéré, la concentration de CO<sub>2</sub> intercellulaire (C<sub>i</sub>) diminue en réponse à la fermeture stomatique, alors que la capacité photosynthétique est maintenue (Figure 9). Cette diminution peut induire l'inhibition réversible de quelques enzymes (par exemple la sucrose-phosphate synthase). En même temps, la teneur en amidon diminue et celle des sucres réducteurs est maintenue ou même augmente (Chaves & Oliveira, 2004).



**Figure 9.** Présentation schématique des effets du déficit hydrique modéré sur la photosynthèse d'après Chaves *et al.* (2004).

Des travaux de Bota *et al.* (2004) ont montré la limitation de la photosynthèse par une activité Rubisco et une teneur en PuBP (figure 9) réduite n'a eu lieu que lorsque la sécheresse est très sévère. Une étude récente sur plusieurs espèces soumises à des conditions de sécheresse, suggère que l'altération métabolique de la photosynthèse n'a eu lieu lorsque la conductance stomatique maximale est très faible. Cette valeur est généralement moins de 50 mmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> (Medrano *et al.*, 2016).

Sous conditions de champ, les plantes sont sujettes aux multiples stresses en condition de sécheresse, à savoir la lumière intense et la chaleur. La combinaison de la forte irradiation avec la carence en CO<sub>2</sub> dans les chloroplastes prédispose les plantes à une faible régulation de la photosynthèse ou à une photoinhibition.

### 3.2.3.2. La chlorophylle

#### 3.2.3.2.1 - Définition, caractéristiques et structure chimique de la chlorophylle

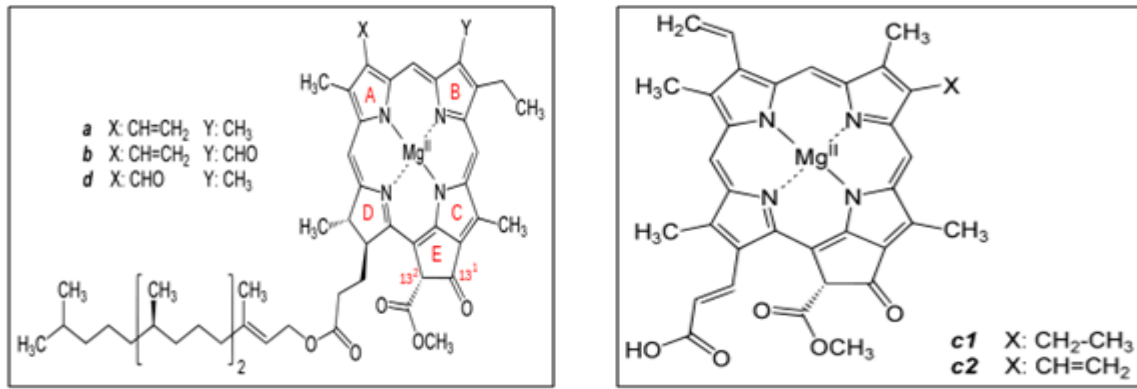
La chlorophylle est le principal pigment assimilateur des végétaux photosynthétiques. Isolé en 1816 par Joseph Bienaimé Caventou et Joseph Pelletier, ce pigment, situé dans les chloroplastes des cellules végétales, intervient dans la photosynthèse pour intercepter l'énergie lumineuse, première étape dans la conversion de cette énergie en énergie chimique. Son spectre

d'absorption du rayonnement lumineux est responsable de la couleur verte des végétaux ; la longueur d'onde la moins absorbée étant le vert, c'est donc cette couleur qui est perçue dans la lumière réfléchiée vers l'œil par la feuille. En effet, elle est un catalyseur pour les réactions. De plus, elle contient, ainsi que les chloroplastes, des enzymes qui sont également des catalyseurs et qui rendent ainsi possible les réactions chimiques des différentes étapes de la photosynthèse (Hopkins, 2003).

Un déficit de magnésium dans le sol ou dans l'eau affecte donc directement la biosynthèse des chlorophylles. La quantité de pigment produite est dans ce cas plus faible et, chez les plantes, les nouvelles feuilles sont alors vert-pâle, voire jaunes. Une manifestation de la carence, plus ou moins prononcée, en minéraux affectant la teneur finale en chlorophylle est appelée chlorose. La chlorophylle, faiblement soluble dans l'eau, l'est en revanche bien davantage dans l'éthanol.

La molécule de la chlorophylle est constituée de deux parties, une tête formée d'une « porphyrine » et une longue queue d'hydrocarbures ou « phytol » (Hopkins, 2003). Les chlorophylles les plus communes sont les chlorophylles *a* et *b*, présentes dans les chloroplastes des cellules de tous les végétaux de couleur verte : plantes à fleurs, fougères, mousses, algues vertes. Les algues brunes (*Fucus*, Diatomées) possèdent les chlorophylles *a* et *c*, d'autres algues brunes, les Xanthophycées, *a* et *e*. Les algues rouges renferment *a* et *d* (Raven *et al.*, 2007). Ces différentes chlorophylles ne diffèrent entre elles que par de petits détails de structure (Figure 10).

Seule la chlorophylle *a* est constante pour tous les végétaux. Parmi les bactéries phototrophes, l'une, le *Prochloron*, possède les chlorophylles *a* et *b* ; les autres ont des bactériochlorophylles qui leur sont propres. Tous ces pigments ont une structure chimique semblable ; tous comprennent un métal, le magnésium.



Structure des chlorophylles *a*, *b* et *d*.

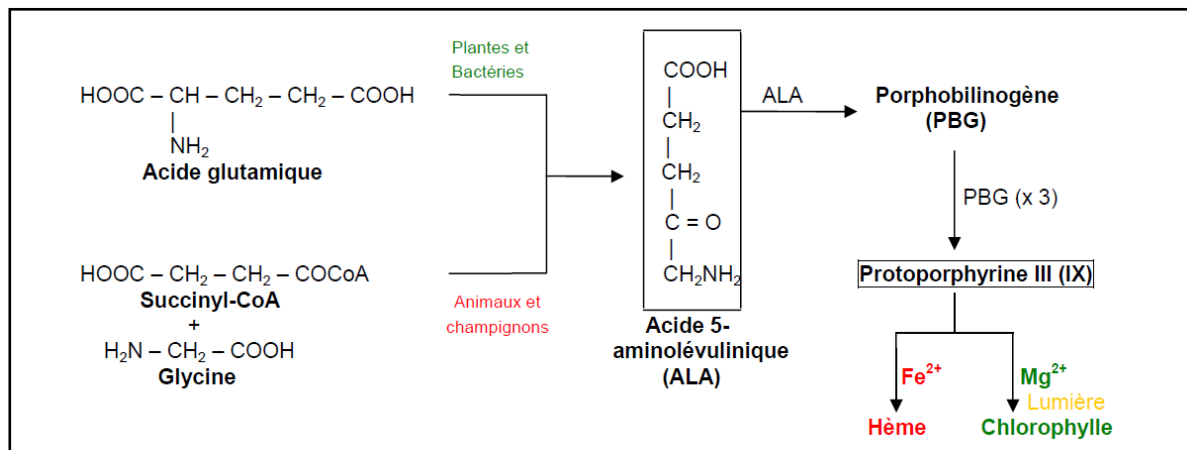
Structure des chlorophylles *c1* et *c2*.

**Figure 10.** Les structures des chlorophylles

La chlorophylle b n'est présente que dans les complexes jouant le rôle d'antennes qui captent l'énergie lumineuse, contrairement à la chlorophylle a qui est aussi impliquée dans les centres réactionnels (Folly, 2000).

### 3.2.3.2.2 - Biosynthèse des Chlorophylles

La chlorophylle et l'hème proviennent d'un même précurseur la protoporphyrine III (encore souvent appelée protoporphyrine IX (3) dans la classification de Fisher) dont la synthèse comporte une série de réactions communes à partir de l'acide 5-aminolévulinique (ALA) (Figure 11).



**Figure 11.** Biosynthèse des Chlorophylles (Lourtie, 2008).

Cependant, pour la synthèse de l'ALA, les bactéries photosynthétiques et les plantes utilisent la voie de l'acide glutamique encore appelée « C-5 pathway » alors que les champignons et les animaux utilisent la voie de la succinyl-CoA et de la glycine (Lourtie, 2008). La formation de l'hème à partir de la protoporphyrine IX (3) nécessite l'insertion du fer,

tandis que celle de la chlorophylle exige l'incorporation du magnésium. La formation de la chlorophylle à partir de la protoporphyrine IX (3) débute par l'insertion de magnésium à l'aide d'une magnésium-chélatase.

### **3.2.3.2.3 - Le phénomène de la dégradation de la chlorophylle**

Le métabolisme de la chlorophylle est certainement le processus biochimique le plus visible. Sa biosynthèse laisse apparaître la couleur verte des plantes au printemps, tandis que sa dégradation se manifeste par la perte du pigment vert en automne et l'apparition des couleurs jaunes, oranges, rouges et brunes. Ces couleurs sont dues à la présence des caroténoïdes, des anthocyanines et les produits d'oxydation de phénols. Alors que la biosynthèse de la chlorophylle est relativement bien comprise (Leeper, 1991), son catabolisme est resté longtemps une énigme.

La destruction de la chlorophylle concerne aussi bien les cellules vivantes et/ou mourantes que les tissus morts. Cette destruction peut être associée à des changements importants dans le cycle de vie de l'organisme (sénescence, adaptation à un nouveau milieu, ...), à un continuel renouvellement de la chlorophylle («turn-over » cellulaire) et à la mort prématurée (provoquée par la variation de la température, les polluants,... ; digestion par un autre organisme ; maladie,...) (Folly, 2000).

L'étude du devenir de la chlorophylle lors de son catabolisme distingue deux sortes de dégradations suivant qu'elles sont dues à des réactions de type I et II (Folly, 2000). Les réactions de type I comprennent l'extrusion du magnésium, l'hydrolyse de l'ester phytylique et les modifications des chaînes secondaires de la chlorophylle. Le noyau tétrapyrrolique est quant à lui laissé intact. Les réactions de type II produisent le clivage du macrocycle aromatique du tétrapyrrole. Les dégradations subséquentes fournissent de plus petits fragments (folly , 2000).

### **3.2.3.2.4 - Destinée de la chlorophylle en cas de stress hydrique.**

Sous déficit hydrique modéré, la concentration de CO<sub>2</sub> intercellulaire (C<sub>i</sub>) diminue en réponse à la fermeture stomatique [visant à limiter les pertes en eau par évapotranspiration et par augmentation de la résistance à l'entrée du CO<sub>2</sub> atmosphérique nécessaire à la photosynthèse (Bousba *et al.*, 2009).], alors que la capacité photosynthétique est maintenue. Cette diminution peut induire l'inhibition réversible de quelques enzymes (par exemple la sucrose-phosphate synthase).



Une diminution ou encore une stabilité du niveau chlorophyllien sont observées pendant des périodes de sécheresse selon sa durée et sa sévérité (Ashraf *et al.*, 1994; Boo & Jung, 1999; Pukacki & Kaminska-Rozek, 2005; Liu *et al.*, 2006). La réduction des teneurs chlorophylliennes sous l'effet du stress hydrique serait prévue. La structure interne du chloroplaste est un système membranaire complexe, connu sous le nom de membrane photosynthétique ou membrane thylacoïdale, sa stabilité dépend de la stabilité membranaire qui, sous conditions de sécheresse, reste rarement intact (Ashraf *et al.*, 1992). Pour limiter les pertes en eau par évaporation et aussi l'augmentation de la résistance à l'entrée du CO<sub>2</sub> atmosphérique nécessaire à la photosynthèse, l'économie de l'eau se traduit par une turgescence relative moins affectée par le stress conduisant à une dilution de la chlorophylle.

Cependant, certains auteurs (Estill *et al.*, 1991) ont rapporté une augmentation considérable des teneurs en chlorophylles lorsque le milieu de culture est déficient en eau. Majumdar *et al.* (1991) ont rapporté un accroissement significatif de l'activité spécifique de la chlorophyllase, la première enzyme impliquée dans la dégradation de la chlorophylle sous l'effet du stress hydrique. Suite à la détérioration membranaire, l'enzyme activée se met en contact avec son substrat et il s'en suit la perte des chlorophylles. Une autre enzyme impliquée dans la dégradation chlorophyllienne, il s'agit des peroxydases (Kuroda *et al.*, 1990). Sur des feuilles d'orge en sénescence, ces auteurs ont mis en évidence une augmentation de l'activité des peroxydases conjointement à une diminution des teneurs chlorophylliennes. L'augmentation des teneurs en chlorophylle totale est la conséquence de la réduction de la taille des cellules foliaires sous l'effet d'un stress hydrique qui engendre une plus grande concentration (Siakhène, 1984).

### **3.2.3.3. La régulation stomatique.**

Les stomates sont le siège de la transpiration de la plante et sont présentes soit sur les deux faces d'une feuille (espèces amphistomatiques), ils sont plus gros et actifs sur la face inférieure, soit, le cas le plus fréquent, uniquement sur la face inférieure (espèces hypostomatiques). Une de leurs fonctions est d'assurer la transpiration nécessaire à la plante pour réguler la température de ses feuilles et la maintenir dans une gamme de viabilité.

Quand la disponibilité de l'eau aux racines diminue, les plantes tendent à diminuer leur transpiration par deux moyens : un effet à court terme consiste en la fermeture des stomates, réduisant de ce fait le flux de l'eau ; un effet à plus long terme consiste à la réduction de la croissance foliaire et par conséquent une surface foliaire transpiratoire réduite. Ces deux

mécanismes de réduction de la transpiration sont des processus adaptatifs qui conservent l'eau pour les étapes postérieures du développement des plantes, mais ils contribuent également à une homéostasie partielle du statut hydrique des tissus (Tardieu, 2005).

L'ouverture et la fermeture des stomates résultent d'un changement dans la turgescence des cellules de garde relativement aux cellules épidermiques (Kanemasu, 1972). L'énergie métabolique et les changements dans la perméabilité membranaire sont aussi impliqués. Les mécanismes détaillés de la réponse à la sécheresse ne sont pas faciles à rationaliser parce qu'à n'importe quel moment, les stomates répondent à une série complexe de facteurs rangeant l'intensité lumineuse, la concentration de CO<sub>2</sub> et l'état hydrique foliaire (Turner, 1974). L'évidence indique que la fermeture des stomates est probablement régulée via des signaux chimiques originaires des racines : Des études dans les années 80 montrent que les stomates se ferment en réponse à un sol desséché même quand le statut hydrique des tiges est maintenu à haut niveau de turgescence, aussi bien par des manipulations expérimentales (Schurr *et al.*, 1992) ou par des expériences *split-root* (Gowing *et al.*, 1990).

L'augmentation du nombre de stomates par unité de surface pourrait être un des facteurs de résistance au stress hydrique chez les céréales si elle est accompagnée par une bonne activité physiologique (Slama, 2002), les stomates agissent comme des régulateurs de pression empêchant la pression du xylème à atteindre les seuils de cavitation (Buckley & Mott, 2002 ; Comstock & Mencuccini, 1998).

La régulation stomatique est le principal contrôleur des pertes en eau, la résistance cuticulaire, la réduction de la surface foliaire et des radiations interceptées, la présence de cires ou le changement de positions de feuilles sont des mécanismes de réduction des pertes en eau (Lacaze, 2006). Au fur et à mesure que la transpiration augmente au niveau des feuilles, le potentiel hydrique foliaire diminue. Il devient de plus en plus négatif. Si l'eau est disponible au niveau du sol (lorsque le potentiel hydrique du sol est fort) alors un courant d'eau depuis le sol jusqu'aux feuilles compense les pertes d'eau lors de la transpiration.

Lorsque la quantité d'eau au niveau du sol diminue, le potentiel hydrique foliaire nécessaire pour provoquer le mouvement d'eau depuis le sol jusqu'aux feuilles doit être d'autant plus faible (Lacaze, 2006).

### 3.2.3.4. L'ajustement osmotique.

L'ajustement osmotique est le mécanisme principal pour maintenir la turgescence cellulaire lorsque le potentiel hydrique diminue, permettant le maintien de l'activité métabolique de la plante et donc le maintien de la croissance et de la productivité. Il se produit quand les concentrations des solutés dans la cellule augmentent pour maintenir le potentiel de turgescence positif. La cellule accumule activement les solutés et il en résulte des baisses de potentiel hydrique favorisant ainsi l'écoulement de l'eau dans la cellule, il est généralement considéré comme un élément important dans la tolérance des plantes au stress hydrique (Bajji *et al.*, 2001).

Le mécanisme d'ajustement osmotique permet de maintenir la conductance stomatique et la photosynthèse à des potentiels hydriques foliaires bas, par ajustement du potentiel osmotique. Il intervient aussi en retardant la sénescence foliaire et en améliorant l'extraction de l'eau par les racines (Turner, 1997). 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 (Bellhassen *et al.*, 1995).

Cet ajustement implique l'accumulation, au niveau cellulaire, des sucres, d'acides aminés (exemple : la proline), d'ions minéraux {NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>} (Salsac & Monneveux, 1991) ou d'autres solutés compatibles (c'est-à-dire non toxiques) (Nouri *et al.*, 2002), Il semblerait que cette accumulation d'osmolites soit liée au maintien de l'intégrité des protéines et des membranes (Crowe *et al.*, 1992). Kumar & Dubey, (1999) ont par exemple montré que lors d'un stress hydrique l'accumulation d'osmolites semblerait aussi être liée à la protection des cellules contre les espèces activées de l'oxygène. Cependant Chez la plupart des végétaux, les métabolites impliqués dans cet ajustement sont assez variés. Des études menées sur l'osmorégulation indiquent que Les composés inorganiques peuvent aussi avoir un effet dans la régulation osmotique et dans la tolérance au stress hydrique. Il semblerait même que ce type de molécule soit plus efficace que les composés organiques (Hare & Cress, 1997).

### 3.2.4. Adaptation biochimique

La tolérance des plantes au stress hydrique peut s'exprimer par l'accumulation d'osmolytes dont les majeurs de ces osmolytes sont les composés azotés. Ce qui traduit l'importance du métabolisme azoté sous conditions stressantes (Bergmann *et al.*, 1995).

L'accumulation d'osmolites permet de créer un influx d'eau dans la cellule ou tout du moins d'éviter un flux, en augmentant la force de rétention des molécules d'eau (Crowe *et al.*, 1992). Le maintien de cette quantité d'eau permet ainsi de conserver la turgescence nécessaire à la croissance des cellules. Cependant, une augmentation d'osmolites n'est pas toujours reliée à une augmentation de la tolérance (Maggio *et al.*, 1997).

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

Ce qui vient d'être exposé ne signifie pas que le manque d'eau soit sans effet sur le métabolisme foliaire ni qu'aucunes modifications ne se produisent dans l'appareil photosynthétique. Une plante soumise à des déficits hydriques successifs s'ajuste à son environnement. Suivant Zhu (2002) on peut distinguer trois aspects de la réponse des plantes à la sécheresse.

(1) Le maintien de l'alimentation en eau et du volume cellulaire lorsque l'environnement devient sec. Cela peut se faire de deux façons.

**Par le maintien des entrées d'eau.** C'est l'un des rôles de l'ajustement osmotique.

**Par la restriction des sorties d'eau.** Les stomates se ferment parce que  $\psi_f$  diminue, mais aussi sous l'action de signaux racinaires impliquant en grande partie l'acide abscissique (ABA). La synthèse d'ABA est accrue dans les racines qui se déshydratent (les racines sont en effet les premiers capteurs du dessèchement du sol) puis véhiculé vers les parties aériennes *via* le courant transpiratoire. D'autres signaux comme l'humidité atmosphérique contribuent aussi à la modulation de la transpiration (Cornic, 2002).

(2) Des dommages qui vont mettre en route des processus de réparation ; notamment l'apparition de stress oxydatifs va déclencher une stimulation des processus visant à éliminer les espèces actives d'oxygène ; l'augmentation de la concentration en ions, consécutive à la diminution de la quantité d'eau dans les cellules, lorsque les cellules ne parviennent plus à maintenir leur volume, va stimuler l'apparition de protéines chaperonnes visant à maintenir la

conformation des structures protéiques perturbées par les modifications des charges électriques dans leur environnement.

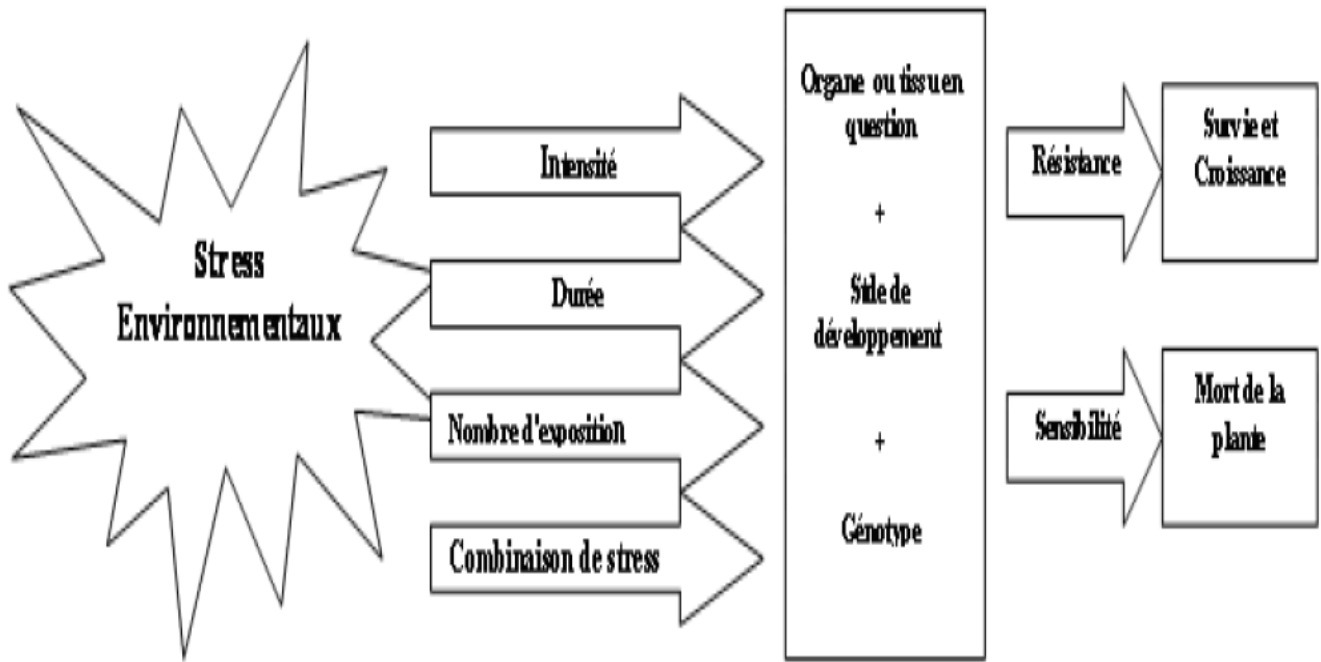
(3) Une reprise modérée de la croissance après une période initiale d'inhibition. Les plantes qui vivent en conditions stressantes ont généralement une faible croissance.

#### **3.2.4.1. La signalétique du stress hydrique**

La réponse des plantes aux stress entre autre le déficit hydrique, dépend des caractéristiques du stress et celles de la plante (Figure 12). Un stress se définit par son intensité, sa durée, le nombre d'expositions ainsi que par son association à d'autres stress (Bray *et al.*, 2000). Au niveau de la plante, la réponse varie en fonction du stade de développement, des organes ou tissus touchés. Les mécanismes de réponse au stress peuvent être spécifiques ou communs à plusieurs stress. Lorsque les mêmes voies de réponses sont employées pour répondre à des stress différents, il s'agit d'une cross-tolérance (Pastori & Foyer, 2002).

Le signal est probablement une diminution de la pression de turgescence qui modifie la conformation d'un ou de plusieurs récepteurs membranaires. Ces changements de conformation sont à l'origine de cascades de signalisations faisant intervenir des phosphorylations de protéines, ou/et l'activation de phospholipases (Cornic, 2002). De nouvelles protéines sont alors synthétisées ; des protéines synthétisées en condition normale ne le sont plus etc.... L'activité de certaines d'entre elles oriente le métabolisme pour assurer la protection de l'organisme et l'homéostasie de son milieu cellulaire (la synthèse de composés osmotiquement actifs).

La détermination de la manière dont les plantes perçoivent le déficit hydrique est complexe. La première étape réside dans la transformation d'une réponse à un signal environnemental à une réponse moléculaire. Elle initie ou supprime une cascade de réponse pour transmettre l'information à travers une voie de traduction du signal.



**Figure 12.** Facteurs déterminant la réponse de la plante à un stress selon Bray *et al.* (2000).

Durant le développement d'un stress hydrique, l'interaction entre les substances amphiphiles, cationiques et anioniques avec les membranes plasmiques favorise un changement de l'état physique membranaire. Après la première perception des changements osmotiques durant le stress hydrique par la stimulation des osmosenseurs, une cascade de traduction du signal impliquant une phosphorylation et une déphosphorylation des protéines a eu lieu par plusieurs protéines kinases et des phosphatases dont les gènes sont régulés positivement par le stress hydrique (Lee *et al.*, 1999).

Une fois le stress est reconnu, les réponses à la sécheresse divergent en plusieurs voies selon l'implication ou non de l'ABA, dans la première voie, l'accumulation de l'ABA active plusieurs gènes associés au stress. Les produits de ces gènes sont soit fonctionnels, c'est le cas des aquaporines. Comme ils peuvent être régulateurs, c'est le cas des protéines kinases. La voie indépendante de l'ABA est encore faiblement comprise. Mais elle est rapidement induite par le stress hydrique (Chaves *et al.*, 2003). Malgré que les deux voies fonctionnent indépendamment, une certaine interférence peut avoir lieu entre elles comme il a été suggéré par Kizis *et al.* (2001).

#### **3.2.4.2. Réponses par médiation d'ABA.**

L'accumulation d'ABA sous déficit hydrique peut résulter d'une augmentation d'anabolisme et /ou une diminution du catabolisme (Bray, 1997). ABA est synthétisé aussi bien au niveau des parties aériennes qu'au niveau des racines en réponse à plusieurs types de stress incluant la sécheresse, l'hypoxie et les faibles températures. Cette accumulation est observée chez toutes les plantes souffrant d'un manque d'eau. Sa synthèse est réalisée dans les plastes, les chloroplastes par exemple. Le point de départ est un caroténoïde oxydé dont l'ossature est formée par 40 carbones : la violaxanthine (Cornic, 2002).

L'accumulation d'ABA dans un organe, chez les plantes en conditions hydriques limitantes, est due d'abord à une augmentation de sa synthèse, mais peut être aussi le résultat d'une diminution de sa dégradation ou d'une augmentation de son importation à partir d'un autre compartiment. Il est à noter que la synthèse d'acide phaséique à partir de l'ABA est stimulée lors d'une réhydratation suivant une période de sécheresse : cela contribue probablement à diminuer la quantité d'ABA dans les tissus.

#### **3.2.4.3. Le stress hydrique déclenche la synthèse de nouvelles protéines**

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

Cette synthèse peut dépendre strictement de la présence de l'ABA, ou strictement de l'établissement d'un déficit hydrique. Parfois ces deux facteurs agissent indifféremment. Peut être, d'ailleurs, dans certains cas, la stimulation des gènes n'est que secondaire et ne se fait qu'à la suite d'une contrainte additionnelle induite par la sécheresse. Par exemple, chez *Arabidopsis* soumis à une contrainte hydrique sévère et rapide environ 10% des gènes dont l'expression est stimulée, codent pour des enzymes impliquées dans la détoxification des espèces actives d'oxygène (Cu- et Zn-SOD, Ascorbate peroxydase, Catalase.....). Comme on l'a indiqué plus haut, les plantes qui se déshydratent sont fréquemment exposées à un stress oxydatif qui pourrait stimuler l'expression de ces gènes.

Le rôle de ces protéines est largement inconnu, bien que leur séquençage et la comparaison avec les banques de données permettent souvent de leur supposer une fonction. Outre les systèmes anti-oxydants qui paraissent renforcés, le transport semble aussi faciliter (aquaporines, transporteurs de sucres....), la résistance aux pathogènes accrues (protéine anti-fongique, chitinase..) et la synthèse des enzymes impliquées dans l'ajustement osmotique augmentée. Le système maintenant la structure des protéines est aussi stimulé (chaperonnes).

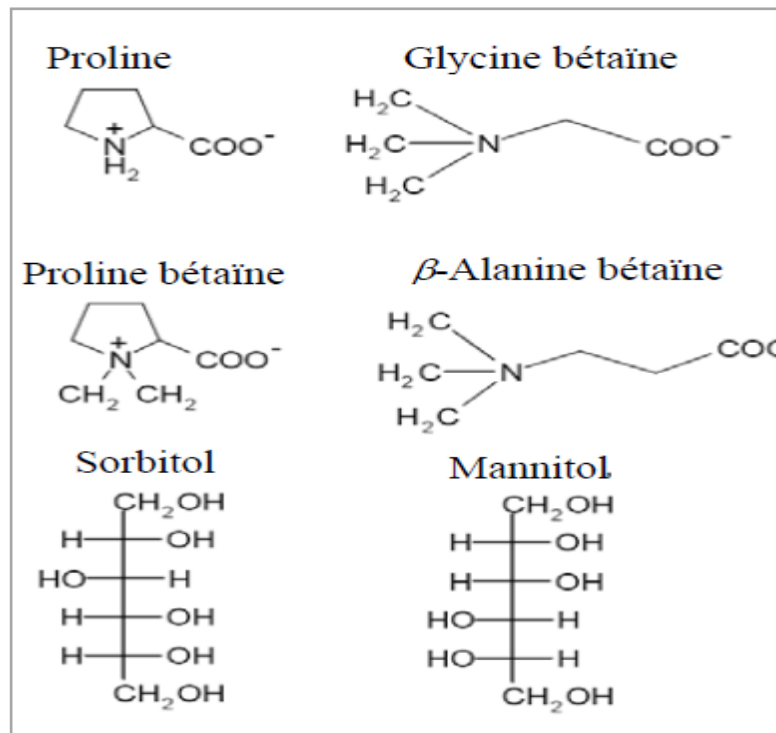
Peut être que l'apparition de protéines portant de nombreuses charges négatives peut-elle permettre la séquestration des cations dont la teneur atteindrait, sans leur présence, des valeurs proches de la toxicité en raison de leur concentration passive due à la déshydratation? Bray (2000). Un changement de l'état physique des membranes peut aussi réguler l'activité des protéines membranaires intégrées, comme les aquaporines qui sont impliquées dans le contrôle du volume cellulaire ou l'homéostasie de turgescence (Tyerman *et al.*, 2002).

#### **3.2.4.4. Le stress hydrique induit une synthèse de molécules « protectrices » et osmotiquement actives.**

Ces petites molécules sont, notamment, des composés ammonium quaternaire, comme la glycine bêtaïne, la proline bêtaïne et la  $\beta$ -alanine bêtaïne, des polyoles, comme le sorbitol, le mannitol et le pinnitol, et un acide aminé : la proline (voir Figure 13).

Tous ces composés sont dits compatibles, c'est-à-dire que leur accumulation n'inhibe pas l'activité des enzymes présentes dans la cellule; pour des pH proches de la neutralité ils ne sont pas ou seulement très peu chargés. Ils participent certainement à l'ajustement osmotique en conditions hydriques limitantes. Mais ils peuvent aussi jouer le rôle d'antioxydants comme le polyoles, ou maintenir l'équilibre redox de la cellule comme la proline et peut être la  $\beta$ -alaninebêtaïne et la glycinebêtaïne (Yancey, 2005).





**Figure 13.** Quelques composés dits compatibles, susceptibles de s'accumuler dans le symplasme lors d'une sécheresse : ils participent à l'ajustement osmotique (Corner, 2008).

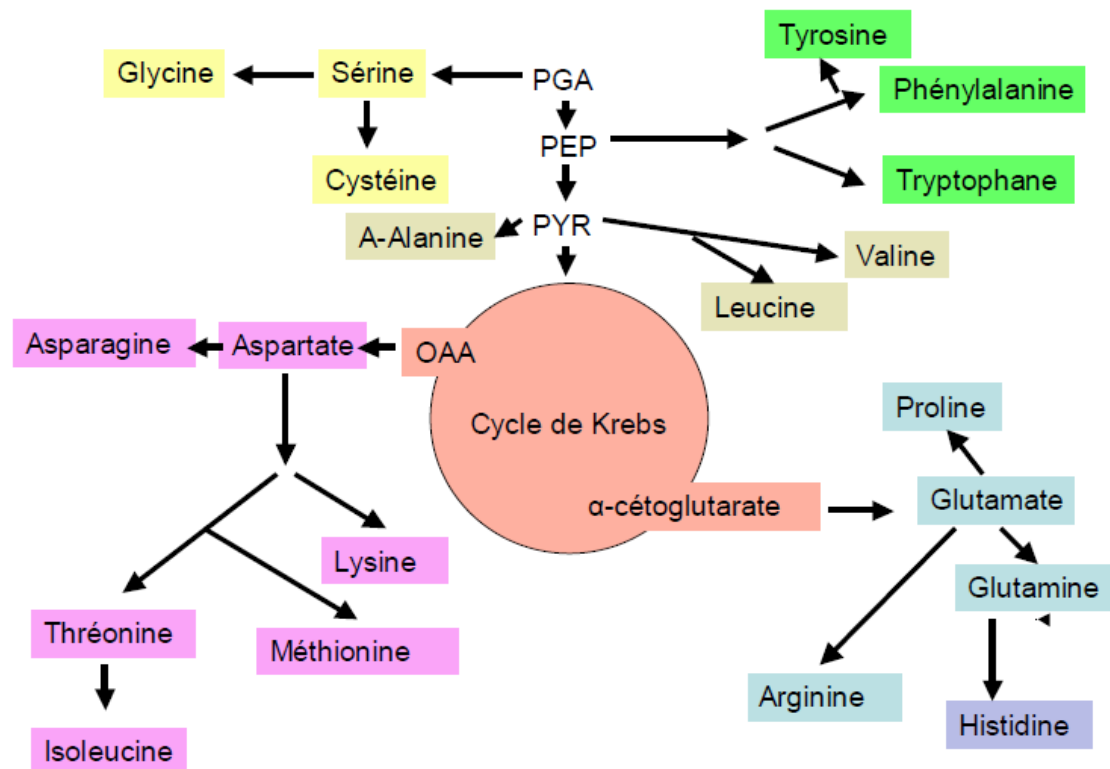
### 3.2.4.5. L'osmolyte Proline

#### 3.2.4.5.1 - Les acides aminés végétaux

Les plantes synthétisent non seulement les 20 acides aminés impliqués dans l'élaboration des protéines mais encore plusieurs centaines d'acides aminés libres, spécifiques de telle ou telle famille ou espèces botaniques en utilisant les oxydes d'azote ou l'ammoniac comme source d'azote. Ces acides aminés sont soit présents en assez grande quantité, (accumulés dans les graines pour stocker de l'azote ou accumulés dans certains organes ou tissus à la suite de contraintes défavorables de l'environnement par exemple), soit en faible quantité, isolés ou liés à une autre molécule et impliqués dans des mécanismes de défense ou de régulation de croissance (Morot-Gaudry, 1997).

L'ammonium, aussi bien celui issu de la réduction des nitrates que celui provenant de la fixation symbiotique, du métabolisme photorespiratoire, et de la dégradation des acides aminés, entre dans le métabolisme essentiellement par la voie GS/GOGAT (Morot-Gaudry, 1997), aboutissant à la formation de **glutamine** et de **glutamate**. Tous les autres acides aminés seront synthétisés, ensuite par transamination, à partir de ces deux acides aminés donneurs d'azote réduit.

Les acides aminés chez les plantes dérivent de précurseurs peu nombreux. Suivant le précurseur, on distingue plusieurs familles d'acides aminés : famille du **glutamate** (**Glutamine**, arginine, **proline**), famille de l'aspartate (asparagine, thréonine, méthionine, lysine, isoleucine), famille du pyruvate (valine, leucine, alanine), famille de la sérine (glycine, sérine, cystéine), famille du shikimate (tyrosine, phénylalanine, tryptophane) toutefois les voies de synthèse des acides aminés sont complexes : elles sont soumises à des contrôles stricts et très souvent « branchées », c'est-à-dire que plusieurs acides aminés peuvent être issus d'un même précurseur (Morot-Gaudry, 1997) (Figure 14).



**Figure 14.** Schéma simplifié des voies de synthèse des acides aminés chez les plantes

Les acides aminés issus du glutamate sont ornithine, arginine, proline, le glutamate après acétylation, phosphorylation, réduction, transamination, est transformé en ornithine, acide aminé non protéique. L'ornithine réagit avec le carbamyl-phosphate pour former la citrulline. Cette dernière molécule en présence d'ATP se condense avec l'aspartate pour former l'arginosuccinate qui se clive en fumarate et arginine. L'arginine, acide aminé riche en azote, est dégradée en ornithine et en urée (Figure 15). Le glutamate est également précurseur de la proline, acide aminé cyclisé. La chaîne de réaction commence par la réduction du glutamate en glutamyl-5-semialdéhyde qui se cyclise spontanément en acide pyrroline-5-carboxylique réduit

ensuite en proline. L'ornithine est également précurseur de l'acide-pyrroline-2-carboxylique, transformé en proline.

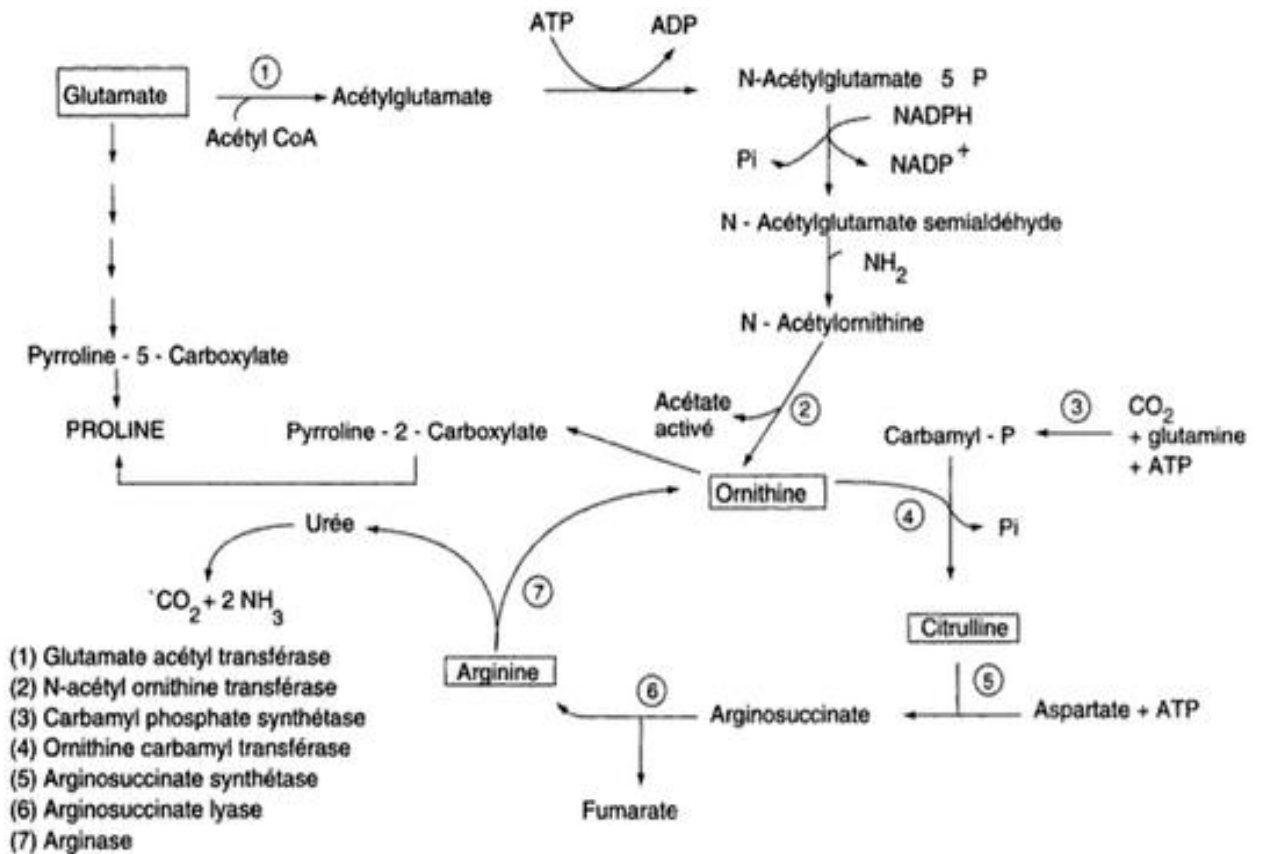


Figure 15. Voie de synthèse des acides aminés issus du Glutamate.

### 3.2.4.5.2 - L'accumulation des substances organiques chez les végétaux

Une *accumulation*, en géologie, hydrologie, etc., est un processus signifiant le rassemblement de produits d'érosion ou d'abrasion, de sels, de sédiments, etc., dans des étendues d'eau naturelles ou artificielles. Une accumulation biologique est une bioaccumulation : La *bioaccumulation* est un processus par lequel certaines substances endogènes ou exogènes, présentes en faible quantité, voient leur concentration augmenter dans un organe, un organisme, un écosystème. Elle désigne la capacité de certains organismes (végétaux, animaux, fongiques, microbiens) à absorber et concentrer dans tout ou une partie de

leur organisme (partie vivante ou inerte telle que l'écorce ou le bois de l'arbre) certaines substances chimiques, éventuellement rares dans l'environnement (oligoéléments utiles ou indispensables, ou toxiques indésirables) (ISIGE, 1992).

Les végétaux produisent et accumulent des métabolites qui présentent une remarquable diversité structurale et une répartition taxonomique originale. Les propriétés de ces métabolites sont multiples : effet répulsif, phytoanticipines, phytoalexines, molécules signal, protection contre les stress biotiques et abiotiques et d'autres dont les rôles physiologiques restent parfois à déterminer. En plus de leur rôle avéré au sein de la plante, ces composés ont également une valeur inestimable pour l'homme de part leurs propriétés nutritionnelles (Hilbert *et al.*, 2015).

L'étude du mécanisme d'accumulation des diverses sortes de substances organiques dans les tissus végétaux a montré que le phénomène comporte dans tous les cas une active migration de substances s'effectuant au sein de l'organisme végétal dans un sens nettement déterminé et vers une partie de cet organisme non moins nettement déterminée, qui est le tissu d'accumulation. Il comporte en outre, dans la majorité des cas, mais non cette fois dans tous, des phénomènes de complication moléculaire qui transforment les corps solubles à petite molécule, oses, acides aminés, amides, qui ont été transportés vers le tissu d'accumulation, en corps à grosses molécules, osides, lipides, protéines (Combes, 1946).

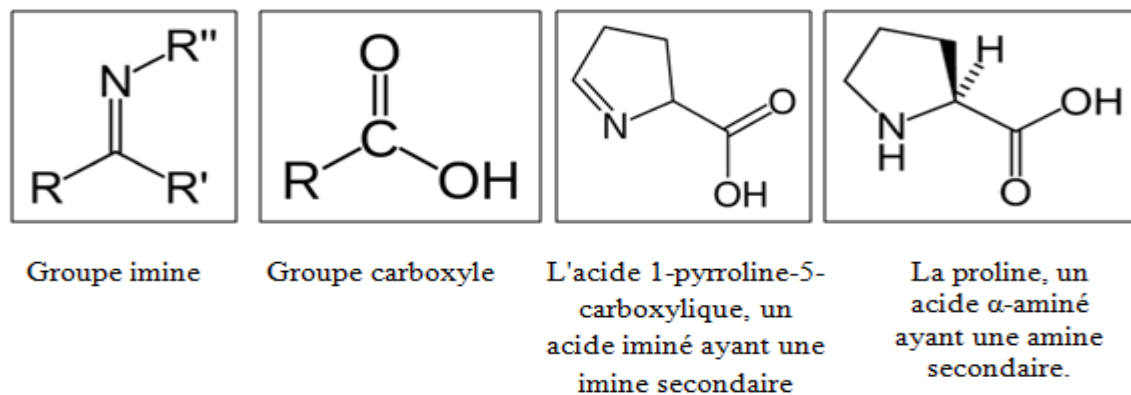
Chaque plante possède, de façon naturelle, une variété de moyens de défense constitutifs. Ces mécanismes varient d'une plante à l'autre, car ils sont très souvent le résultat d'une adaptation temporelle à des conditions climatiques ou environnementales particulières. Plusieurs études indiquent des différences aussi bien qualitatives que quantitatives quant à la synthèse et à l'accumulation des molécules de défense, indiquant donc une spécificité liée à la nature même de la plante (Benhamou & Rey, 2012). Chez une même espèce, les individus peuvent pour des raisons génétiques être plus ou moins accumulateurs, mais de manière générale certains genres ou groupes sont connus pour être de très bons bioaccumulateurs.

#### **3.2.4.5.3 - La proline : définition et structure biochimique**

La proline (abréviations IUPAC-IUBMB : Pro et P) est un acide  $\alpha$ -aminé dont l'énantiomère L est l'un des 22 acides aminés protéinogènes, encodé sur les ARN messagers par les codons CCU, CCC, CCA et CCG. C'est le seul acide aminé protéinogène ayant une amine secondaire (Figure 16) et non primaire, ce qui lui confère une géométrie particulière tendant à interrompre les structures secondaires des protéines telles que les hélices  $\alpha$  et les feuilletts  $\beta$ .

C'est un acide aminé jouant un rôle important dans la structure des protéines et fait exception des vingt acides aminés pourvus d'une fonction imine et non d'une fonction amine (Stryer, 1992). La proline serait synthétisée à partir de l'acide glutamique via la pyrroline 5-carboxylate (P5C) mais également de l'arginine et l'ornithine (Lignowski & Splittstoesser, 1971). Contrairement à la majorité des acides aminés synthétisés essentiellement dans le chloroplaste, la proline est synthétisée dans le cytosol et la mitochondrie. La concentration en proline peut être relativement importante dans les cas de contraintes environnementales, comme la salinité, la sécheresse, les fortes températures. La proline est considérée comme un osmoprotecteur (Morot-Gaudry, 1997).

En chimie, un acide « iminé » est une molécule possédant à la fois un groupe fonctionnel  $-\text{COOH}$  (carboxyle) et un groupe fonctionnel  $>\text{C}=\text{N}-$  (imine) (Figure 16). Les acides iminés sont apparentés aux acides aminés, qui possèdent à la fois un carboxyle  $-\text{COOH}$  et un groupe fonctionnel  $-\text{NH}_2$  (amine). Les acides aminés comportant une amine secondaire sont parfois appelés improprement « acides iminés », comme c'est par exemple le cas de la proline, un acide  $\alpha$ -aminé protéinogène (IUPAC, 2014).



**Figure 16.** Structure biochimique de la proline.

#### 3.2.4.5.4 - L'accumulation de l'osmolyte proline chez les végétaux et les céréales.

L'accumulation de la proline est l'une des manifestations les plus remarquables chez les plantes pour limiter les effets du stress abiotique afin de réaliser l'ajustement du potentiel osmotique dans le cytoplasme (Benlaribi & Monneveux, 1988 ; Sanada *et al.*, 1995 ; Belkhodja & Benkabilia, 2000 ; Zerafa, 2006 ; Benlaribi *et al.*, 2014) et le maintien de l'amélioration de la stabilité des membranes cellulaires (Alem & Amri, 2005). Cette molécule accumulée dans le cytosol est reconnue comme un osmolyte impliqué dans l'osmorégulation

cytoplasmique au moment où l'absorption d'ions minéraux ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{K}^+$ ) et la synthèse d'acides organiques participent à l'ajustement osmotique vacuolaire. Les plantes développent des réactions métaboliques d'adaptation ou plutôt d'acclimatation matérialisées, entre autres, par l'augmentation de la concentration en proline libre dans les tissus. (Benlaribi & Monneveux, 1988).

Son accumulation dans les feuilles de plantes qui souffrent d'un manque d'eau a été décrite très anciennement. L'étude de l'accumulation de la proline chez les végétaux soumis aux contraintes hydrique, a été abordée par divers auteurs et plusieurs sélectionneurs et physiologistes ont utilisé la capacité de son accumulation dans le criblage de géotypes résistants au déficit hydrique [(Benlaribi & Monneveux, (1988), sur le blé dur ; Bellinger *et al.*, (1989) sur le maïs)], au froid [(Dorfling & Askman (1989) sur le blé tendre)] et à la salinité [ (Hubac & Vieira Da Silva (1980) chez *Artemisia herba alba* )].

Les résultats obtenus indiquent une augmentation de la proline chez les plantes exposées à différents stress. Cette augmentation induit le maintien d'une pression osmotique interne élevée (Bouras, 2001). En effet, l'accumulation de la proline est proportionnelle à la durée et à l'intensité du stress. De ce fait, elle devient de plus en plus utilisée pour la sélection des espèces et des variétés les plus résistantes à la sécheresse. Son accumulation rapide lors d'un cycle de sécheresse a été mise en évidence chez de nombreuses plantes (Bouras, 2001).

Sa concentration peut aussi augmenter dans les grains de pollen au court de leur maturation (ils perdent alors leur eau) et dans les pointes de racines chez les semences qui se développent sur un substrat sec. L'activation de sa synthèse et l'inhibition de son oxydation par les mitochondries contribuent ensemble à cette augmentation. Il peut être aussi transporté dans la plante : l'accumulation de proline dans les apex racinaires de jeunes plants de maïs est due à son transport à partir du caryopse (Voetberg & Sharp, 1991).

On pense que l'accumulation se fait dans le cytoplasme où sa concentration atteint parfois 230 à 250 mM. Elle peut à cette concentration participer effectivement à l'ajustement osmotique de la plante. Mais elle contribue aussi, certainement, à l'osmorégulation du cytoplasme en contrebalançant la diminution du potentiel osmotique qui se produit dans les vacuoles lorsqu'elles séquestrent des composés non compatibles (toxiques pour les cellules) comme le  $\text{Na}^+$  et le  $\text{Cl}^-$ . À côté de ses fonctions décrites plus haut, la proline peut stabiliser les membranes, en interagissant avec les phospholipides, et augmenter la solubilité des protéines.

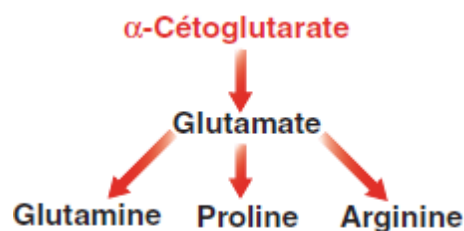
Son accumulation s'observe aussi à basse température ou lorsque la salinité du milieu est élevée : conditions toujours associée à une contrainte hydrique. L'accumulation de proline est une réponse au stress très répandue dans le monde végétale ; elle s'observe aussi dans le monde des bactéries (Samaras *et al.*, 1995).

Singh et Rai, (1980) constatent que l'effet d'un stress hydrique sur la croissance des plantes d'orge est accompagné par une augmentation marquée de l'accumulation étant grande dans le limbe. Hanson *et al.* (1977) montrent dans le cas des plantes d'orge, que les feuilles se dessèchent au delà d'un certain seuil d'accumulation de la proline, ainsi que chez le blé dur et le blé tendre (Tan & Halloran, 1982).

Certains chercheurs pensent que l'accumulation de la proline n'est qu'un simple symptôme de l'action du manque d'eau (Hanson *et al.*, 1977). Par contre des auteurs ont considéré que la proline n'est pas un indicateur de l'action du manque d'eau, mais un indicateur de son degré, à cause de son importante augmentation lors de la sévérité du stress. D'autres auteurs pensent que l'accumulation est véritable indicateur de résistance à la sécheresse (Hubac & Guerrier, 1972 ; Dreier, 1987).

#### 3.2.4.5.5 - Synthèse et dégradation de la proline

- Chez les plantes, la proline est synthétisée essentiellement à partir du glutamate (Figure 17), la cellule végétale est capable de synthétiser de toutes pièces ces noyaux cycliques, ainsi le noyau pyrrole de la proline est élaboré avec divers intermédiaires par cyclisation d'acide glutamique (Benlaribi *et al.*, 2014). L' $\alpha$ -cétoglutarate conduit au glutamate qui conduit à son tour à la glutamine, à la proline et l'arginine (Weinmam & Méhul, 2004).



**Figure 17.** Biosynthèse de la proline à partir du glutamate (Weinmam & Méhul, 2004).

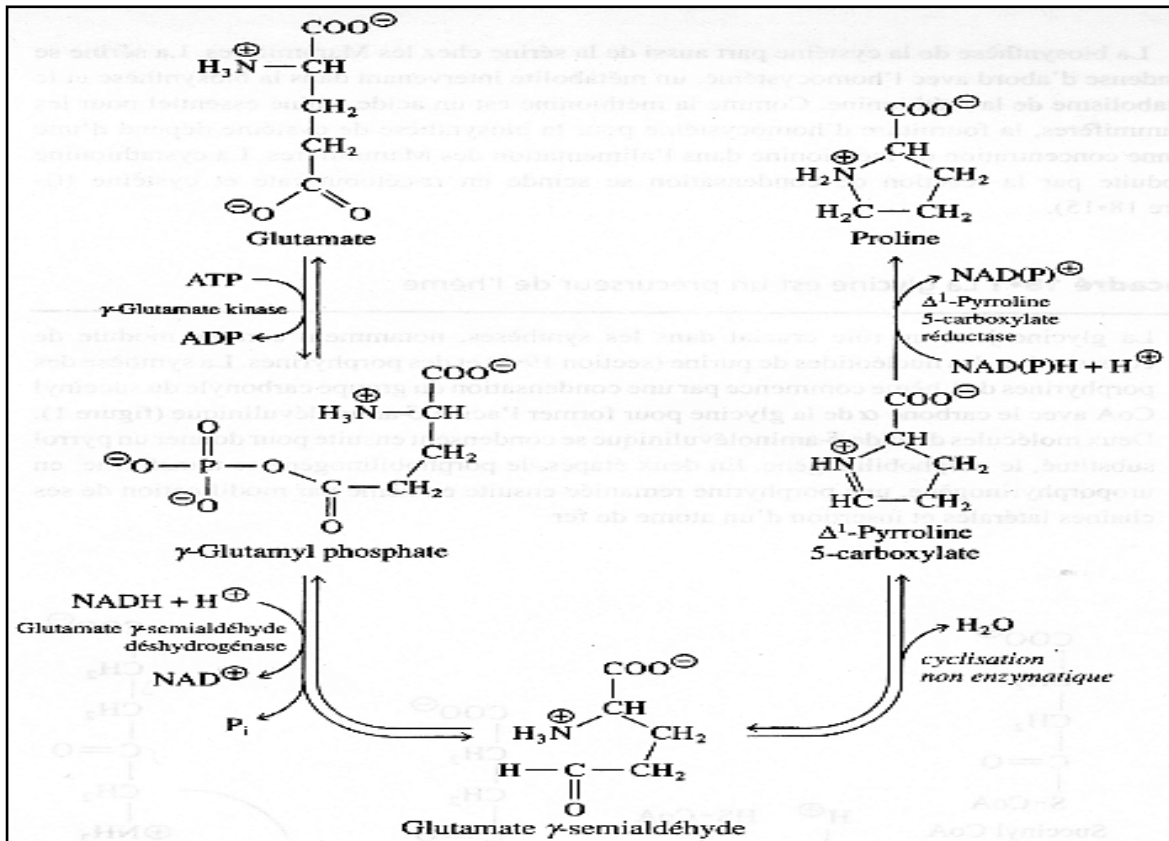
L'origine de la proline accumulée sous stress n'est pas totalement éclaircie. Elle est soit synthétisée de nouveau à partir de l'acide glutamique (Glu) ou via l'ornitole (Orn), qui sont utilisés comme précurseurs (Samaras *et al.*, 1995). Les hydrates de carbone peuvent être des facteurs essentiels dans l'accumulation de la proline, car la synthèse des protéines est liée

automatiquement au métabolisme des glucides et à la respiration (dans le cycle de Krebs) par l'intermédiaire l' $\alpha$  cétooglutarate qui forme le statut carbonique pour la synthèse de la proline (Venekamp *et al.*, 1988) . L'addition de l'ornithine dans le milieu de culture augmente la source de la proline par l'intermédiaire de l'enzyme ornithine amino-transférase (Le dily *et al.*, (1993) in Chaib, 1998). Savouré *et al.*, (1995) montrent chez *Arabidopsis* que l'augmentation de transcrits de la P5CR ( $\gamma$ -pyrroline-5- carboxylate synthétase) est corrélée à une augmentation de proline. De plus, cet auteur a montré que cette augmentation était directement reliée à l'application du stress. En effet, lors de la phase de récupération juste après l'application du stress, le contenu en proline diminue en même temps que la quantité de transcrits correspondant à la P5CR ( $\gamma$ - pyrroline-5- carboxylate synthétase). L'induction de ce gène est directement reliée à la régulation du taux de proline dans les cellules en fonction du stress. En effet, Ober & Sharp, (1994) mentionnent que l'ABA est nécessaire pour l'accumulation de la proline sous faible potentiel.

Ben Rejeb *et al.*, (2012) considère que la synthèse de la proline passe par les étapes suivantes :

- la première réaction est catalysée par la  $\gamma$ -glutamate kinase qui phosphoryle le glutamate en  $\gamma$ -glutamylphosphate, ce qui correspond à la première réaction de synthèse de la glutamine (Figure 18).
- la seconde réaction fait intervenir le  $\text{NADH,H}^+$  et déphosphoryle le  $\gamma$ -glutamylphosphate en glutamate  $\gamma$ -semialdéhyde (Figure 18) .
- la troisième réaction est spontanée, ne faisant intervenir aucune enzyme : c'est la cyclisation du glutamate  $\gamma$ -semialdéhyde en base de Schiff interne
- enfin, une réductase forme la proline qui, selon les organismes, utilise le NADH ou le NADPH (Ben Rejeb *et al.*, 2012).

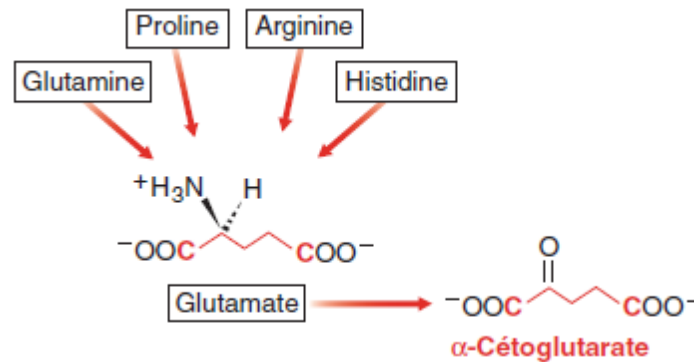




**Figure 18.** Étapes de la biosynthèse de la proline (Ben Rejeb *et al.*, 2012).

- La dégradation des aminoacides conduit à des intermédiaires métaboliques majeurs. Ces derniers peuvent être complètement oxydés en CO<sub>2</sub> et H<sub>2</sub>O par le cycle de l'acide citrique. Ils sont aussi susceptibles d'être convertis en corps cétoniques et en acides gras ou encore en glucose et les aminoacides qui leur ont donné naissance sont alors qualifiés de cétogènes ou (glycoformateurs) ou de glycogènes (ou glycoformateurs) respectivement (Benlaribi *et al.*, 2014).

\*\*\*La Proline au même titre que l'arginine, la glutamine et l'histidine sont convertis en α-cétoglutarate par l'intermédiaire du glutamate selon la figure suivante (Weinmam & Méhul, 2004) (Figure 19).



**Figure 19.** Dégradation des acides aminés (Weinmam & Méhul, 2004).

### 3.2.4.5.6 - Explication enzymatique du métabolisme et catabolisme de la proline.

Il est connu que la proline s'accumule parce que le stress hydrique stimule sa synthèse, diminue le taux de sa dégradation et son incorporation dans les protéines. De là, il a été montré que sa reconversion en glutamate par oxydation se fait rapidement dans la mitochondrie sitôt les conditions redevenues favorable.

L'accumulation de la proline induite par les stress peut être le résultat de trois processus complémentaires : stimulation de sa synthèse (Morris *et al.*, 1969 ; Boggess *et al.*, 1976) inhibition de son oxydation (Rayapati & Stewart, 1991) et /ou altération de la biosynthèse des protéines ( Stewart *et al.*, 1977).

La réduction du taux de proline constatée après une réhydratation de plantes stressés laisse croire à une dégradation de celle-ci, Elle pourrait en outre jouer plusieurs rôles dans le métabolisme intracellulaire, dans la protection des membranes et des systèmes enzymatiques, et favoriserait la reprise après réhydratation (Zérafa, 2006).

Ce fait est dû au processus d'oxydation de la proline qui s'active de nouveau après la réhydratation. En condition de déficit hydrique, l'expression de ProDH est inhibée. Lors de la réhydratation de la plante ou après un traitement par la proline, le catabolisme de cet acide iminé et en particulier l'expression de ProDH sont induits, c'est-à-dire le retour des arrosages entraîne une résorption (conversion ou /et dégradation) très rapide de ce composé aminé (Roeder, 2006).

Selon un autre point de vue, l'accumulation de la proline n'est pas une réaction l'acide aminé à travers le phloème (Carceller, 1995). La synthèse de la proline peut adaptative au stress mais plutôt le signe d'une perturbation métabolique (Zid & Grignon, 1991). De plus, d'autres facteurs influent sur l'accumulation de la proline tels que l'inhibition de l'oxydation, due à un

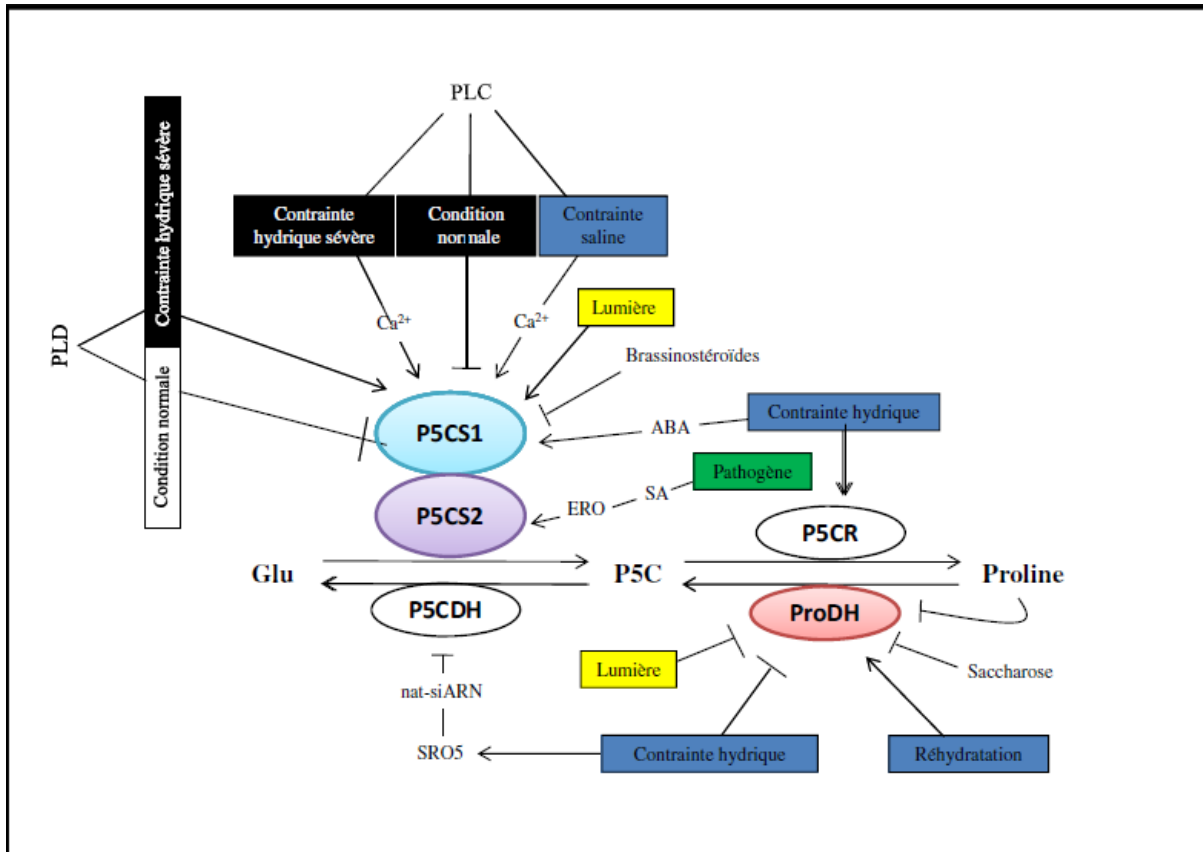
effet mitochondrial et à la réduction du taux de translocation d'être incluse dans la régulation du pH cytoplasmique (Bellinger & Larher, 1987).

### **3.2.4.5.7 - Régulation du métabolisme de la proline lors d'un stress hydrique et oxydatif et après réhydratation.**

Les concentrations intracellulaires en proline dépendent d'une régulation fine entre sa biosynthèse et son catabolisme. Les deux étapes limitantes du métabolisme de la proline se situent au niveau de sa biosynthèse, catalysée par la P5CS, et à celui de son catabolisme, catalysé par la ProDH. L'expression du gène *P5CS* et la répression simultanée du gène *ProDH* conduisent à une accumulation de la proline pendant le déficit hydrique, tandis que la réhydratation provoque une régulation opposée (Peng *et al.*, 1996).

En condition de déficit hydrique, l'expression de *ProDH* est inhibée. Lors de la réhydratation de la plante ou après un traitement par la proline, le catabolisme de cet acide aminé et en particulier l'expression de *ProDH* sont induits (Servet *et al.*, 2012). L'analyse du promoteur de *ProDH* et son induction par la proline ont conduit à l'identification d'un élément *cis* ACTCAT appelé *Proline-Response-Element* (PRE) (Satoh *et al.*, 2002). Cet élément est reconnu par des facteurs de transcription de type bZIP (*Basic Leucine Zipper Protein*), en particulier AtbZIP11 et AtbZIP53 (Satoh *et al.*, 2004). L'expression ectopique de bZIP11 chez *Arabidopsis* induit l'expression de *ProDH1* et *ProDH2* conduisant à la diminution des niveaux de proline (Hanson *et al.*, 2008).

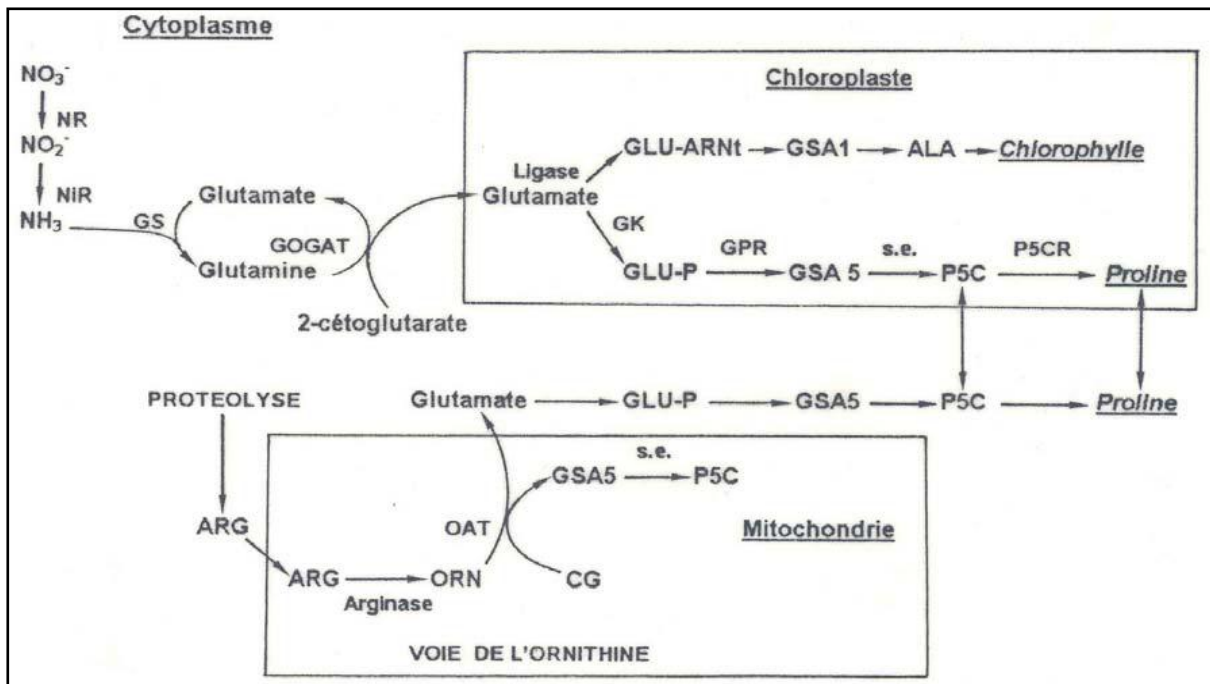
Hayashi *et al.* (2000) ont montré que chez *A. thaliana* les niveaux de proline et des transcrits *P5CS* et *ProDH* sont dépendants de la photopériode. A l'inverse de *P5CS1*, l'expression de *ProDH1* est inhibée par la lumière et induite par l'obscurité. En analysant le métabolisme de la proline à un stade précoce de la réponse hypersensible (RH) contre l'attaque par un agent pathogène chez *A. thaliana*, Cecchini *et al.* (2011) ont montré que l'activité ProDH est nécessaire au développement de la RH. L'induction de l'expression *ProDH1* est dépendante du SA (Figure 20).



**Figure 20.** Voies de signalisation impliquées dans la régulation du métabolisme de la proline. Ces voies ont été principalement caractérisées chez *Arabidopsis thaliana* d'après (Ben Rejeb *et al.*, 2012).

### 3.2.4.5.8 - Relation entre l'acide iminé proline et la chlorophylle chez les végétaux soumis à un stress hydrique.

Bezzalla (2005) rapporte que l'accumulation de la proline résulte de la perturbation du métabolisme des protéines causée par une protéolyse membranaire. Il semble que la stimulation de la synthèse de la proline soit parallèle à une activation globale d'une voie métabolique partant du glutamate semi-aldéhyde et conduisant à la proline. Un signal enzymatique au niveau du chloroplaste qui déclencherait la biosynthèse de la chlorophylle, stimulerait également celle de la proline dans cet organe. La tolérance remarquable de l'appareil photosynthétique à la déshydratation suggère que cette survie des plantes en manque d'eau est partie due à l'entretien de la capacité photosynthétique des feuilles, permettant le rétablissement rapides des plantes suite à une période de déficit hydrique (Tahri *et al.*, 1997 ; Zerrad *et al.*, 2006).



**Figure 21.** Interconnexion des voies de biosynthèse de la chlorophylle et de la proline (Tahri *et al.*, 1997)

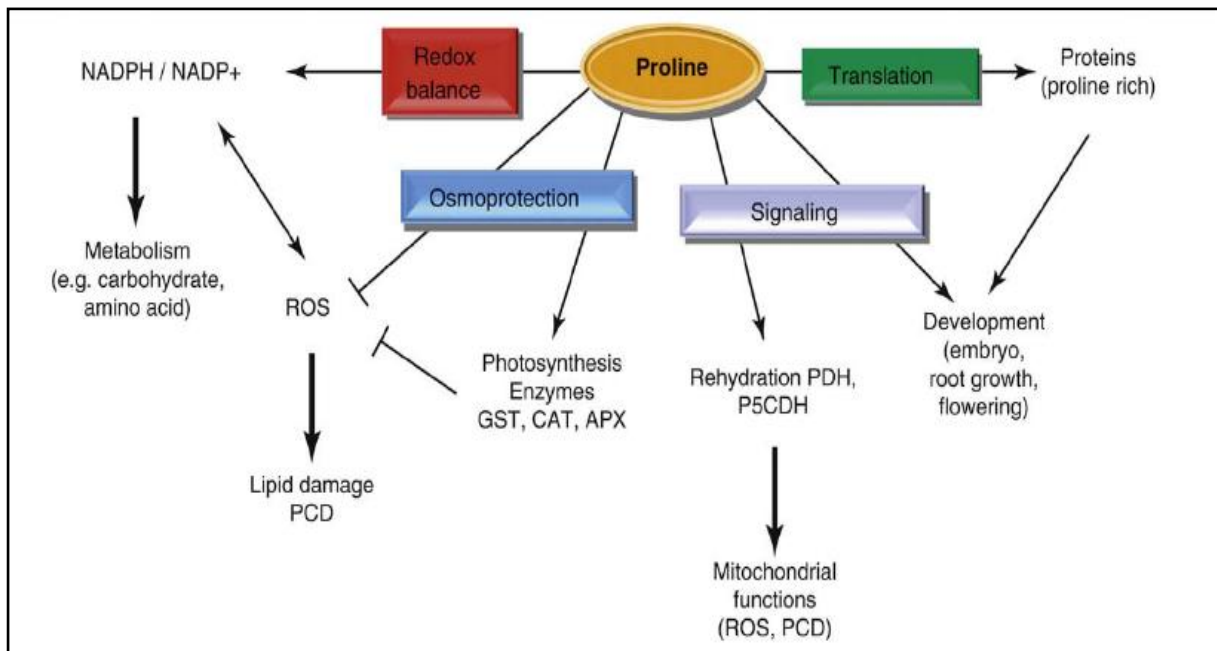
Cependant les constatations de (Tahri *et al.*, 1997) montrent une certaine proportionnalité, mais inverse, entre les teneurs en proline accumulées et les teneurs en pigments chlorophylliens perdues par chacune des trois variétés. La variété qui accumule plus de proline est aussi celle qui connaît la plus forte diminution de ses teneurs en pigments chlorophylliens et vice versa. Les classements obtenus montrent qu'une bonne corrélation (inverse) existe entre les deux tests utilisés.

Ces résultats suggèrent l'existence d'une connexion vraisemblable entre les voies de biosynthèse des pigments chlorophylliens et de la proline. Une compétition entre ces deux composés sur leur précurseur commun, le glutamate, peut être à l'origine de cette évolution (Bengston *et al.*, 1978 ; Reddy & Veeranjanyulu, 1991). (Figure 21).

### 3.2.4.5.9 - Rôle de la proline chez une plante soumise à un stress hydrique (sécheresse).

Il est aujourd'hui bien admis que la proline, outre sa contribution dans l'ajustement osmotique, a d'autres rôles (Figure 22), (Szabados & Savouré, 2010). La proline peut stabiliser les membranes et les complexes protéiques. Elle peut agir comme antioxydant, notamment grâce à sa capacité de piégeage des radicaux libres. Elle peut également intervenir dans la régulation du pH cytoplasmique ou servir de réserves carbonées et azotées que la plante

utilisera postérieurement à la période du stress. Selon des données récentes, l'effet protecteur de la proline en condition de stress serait la conséquence des changements dans la régulation de son métabolisme et de ses propriétés intrinsèques. La biosynthèse et la dégradation de la proline sont impliquées dans la régulation du potentiel redox intracellulaire, le stockage d'énergie et son transfert (Ben Redjeb *et al.*, 2013).



**Figure 22.** Rôles connus de la proline (Ben Redjeb *et al.*, 2013).

Par conséquent elle aide dans la stabilisation de protéines membranaires et des protéines libres, ce qui suggère qu'elle a un rôle d'osmoprotecteur du fait qu'elle est la plus accumulée dans les plastides, les mitochondries et le cytosol (Bezzalla, 2005).

### 3.2.4.6. Réponses par médiation des sucres

Dans les conditions optimales, les plantes vertes ont tendance à élaborer les glucides, dont le saccharose et l'amidon sont les premiers glucides stables issus des processus photosynthétiques du cycle de Calvin et de la voie de glycolate. L'amidon est stocké au niveau de la vacuole ou transporté vers les organes de stockage (Hawker *et al.*, 1991). Les principaux sucres qui s'accumulent sont le glucose, le fructose et le saccharose (Hare *et al.*, 1998). Les sucres protègent les membranes contre la déshydratation et participent au maintien des réactions de phosphorylations et de production d'énergie (Loretti *et al.*, 2001). Ils protègent les processus de synthèse des enzymes, ce qui impliquerait une meilleure tolérance de la plante à la sécheresse (Duffus & Binnie, 1990).

Par ailleurs, Rascio *et al.* (1994) trouvent que l'accumulation des sucres réduits, principalement le glucose chez le blé dur été associé à une diminution du potentiel osmotique, quand le stress hydrique augmente graduellement. Le potentiel osmotique peut être maintenu pour un stress hydrique de faible ou moyenne intensité, par ajustement osmotique. Les sucres peuvent servir de composés solubles compatibles pour cet ajustement osmotique, comme de nombreuses autres molécules (proline, glycine-bétaïne ou pinitol).

Les sucres affectent également l'expression des gènes photosynthétiques par l'intermédiaire d'une voie complexe et interconnectée. L'épuisement des sucres déclenche une augmentation de l'activité photosynthétique, probablement due à une dépression des signaux de sucre sur la transcription (Pego *et al.*, 2000). L'implication des sucres dans la tolérance au stress hydrique a été mise en évidence par les corrélations observées entre le contenu en certains sucres et l'acquisition de la tolérance (Déjardin *et al.*, 1999). De nombreuses études ont mis en évidence l'accumulation de sucres solubles lors de la dessiccation. Une idée principale en ressort différents sucres solubles peuvent être présents dans des tissus bien hydratés, mais le saccharose est préférentiellement accumulé dans les tissus en déshydratation (Déjardin *et al.*, 1999).

En effet, Hare & Cress, (1997) remarquent que les sucres glucose, fructose et le saccharose représentent des osmotocums beaucoup moins puissants que la proline, ils participent eux aussi au maintien de la balance de la force osmotique, mais les enzymes liés au métabolisme des sucres semblent avoir une importance majeure dans la tolérance au stress hydrique (Geigenberger *et al.*, 1997).

## **4. Les plantes sous irrigation déficitaire et stress oxydatif**

### **4.1. Plantes et stress oxydatif.**

#### **4.1.1. Stress oxydatif et espèces réactives de l'oxygène**

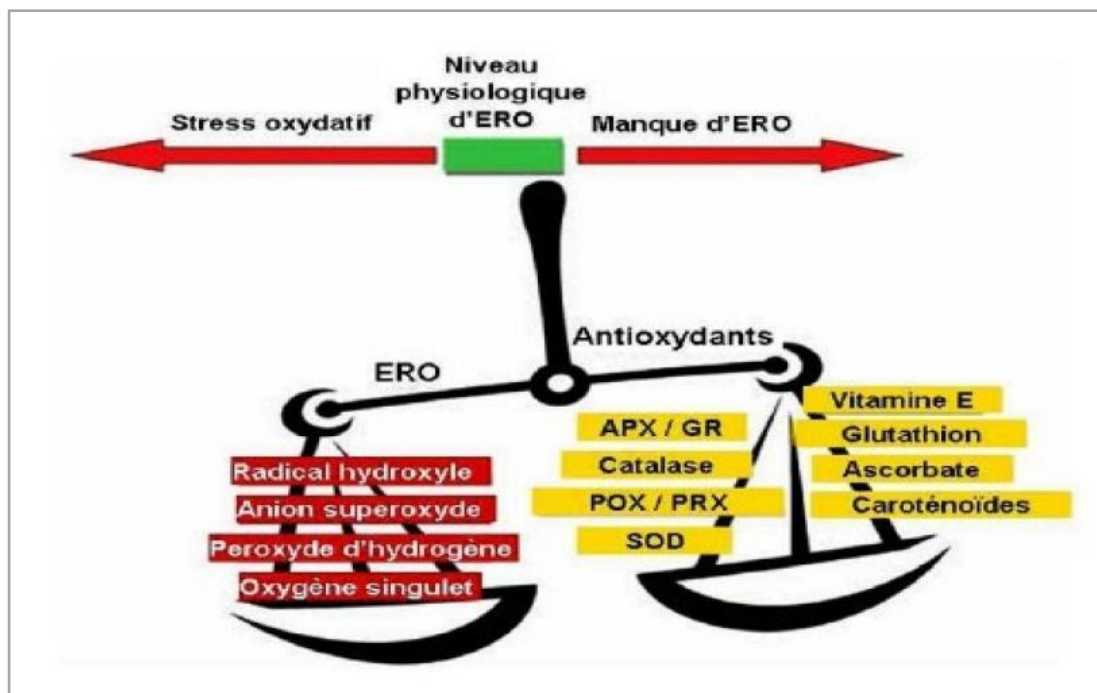
Une des conséquences des stress environnementaux, comprenant les stress hydriques et salin est l'apparition d'un stress oxydatif ; c'est-à-dire l'accumulation d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Smirnoff, 1993). Dans les systèmes biologiques, le stress oxydant est la conséquence d'un déséquilibre entre la production d'espèces réactives oxygénées (ERO) et leur destruction par des systèmes de défense antioxydants (Bonfont-Rousselot *et al.*, 2003).

Les variations de l'environnement auxquelles sont sujets les végétaux les contraignent à posséder une forte capacité d'adaptation. Lorsque ces changements sont trop brutaux, ils peuvent provoquer l'apparition d'un stress oxydant caractérisé par la formation d'espèces

oxygénées réactives (ERO) et nitrées réactives (ENR). Ce stress peut ainsi provenir de facteurs abiotiques, par exemple dans le cas d'un stress lumineux, d'une sécheresse, d'une exposition au froid, à la chaleur ou aux UV, ou de conditions d'hypoxie (Mittler, 2002). Il peut également être de nature biotique comme l'attaque par des insectes et des animaux, ou par des micro-organismes pathogènes tels des virus, des bactéries ou des champignons. Ces facteurs étrangers à la plante vont bouleverser son métabolisme, conduisant à la formation de composés réactifs qui peuvent induire différentes réactions de la plante (Noctor & Foyer, 1998).

L'oxygène est à l'origine d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), des molécules ayant des effets à la fois bénéfiques et délétères conduisant à la mort cellulaire. Pour se protéger de cette toxicité, et pour permettre aux ROS d'intervenir dans la réponse physiologique, les plantes ont développé des mécanismes contrôlant l'accumulation de ROS. On connaît plusieurs sources de ROS dans les différents compartiments de la cellule végétale (Droge, 2002).

Dans les conditions quotidiennes normales, les espèces (ROS ou ERO) sont produites en faible quantité comme des médiateurs tissulaires ou des résidus des réactions énergétiques ou de défense et cela sous le contrôle de systèmes de défense adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents. Dans ces conditions on dit que la balance Pro-oxydant/ Anti oxydant est en équilibre, cette dernière peu être rompue pour diverses raisons en faveur du système Pro-oxydant et est alors à l'origine d'un stress oxydant (Favier, 2003) (Figure23).



**Figure 23.** Schématisation de la balance entre les espèces réactives oxygénées (ROS) et les antioxydants (Pourrut, 2008).



Les espèces réactives de l'oxygène (ERO ou ROS) sont des dérivés de l'oxygène ou certains électrons se trouvent dans un état énergétique excité et très réactionnel. Elles représentent la plus importantes classe d'espèces réactives générées dans les organismes vivants et la cause majeure du stress oxydatif dans ces derniers (Valko *et al.*, 2007).

Ce sont soit des espèces actives radicalaires de l'oxygène (Tableau IV) tels que le radical (anion) superoxyde ( $O_2^-$ ), le radical hydroxyle ( $OH^\bullet$ ), les peroxyes ( $ROO^\bullet$ ) ou les alkoxyes ( $RO^\bullet$ ), soit des espèces actives non radicalaires de l'oxygène, comme l'oxygène singulet ( $^1O_2$ ), le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) ou l'ozone ( $O_3$ ), les premières dérivent de l'oxygène par des réductions monoélectroniques, alors que les dernières dérivent de l'oxygène et peuvent être des précurseurs de radicaux (Noguchi, 2002 ; Krieger-Liszkay, 2005).

**Tableau IV.** Espèces réactives de l'oxygène radicalaire et non radicalaire (Halliwell, 2006).

<b>ERO (radicalaire)</b>	<b>Formule chimique</b>
Oxygène moléculaire	$^3O_2$
Dioxygène singulet	$^1O_2$
Anion superoxyde	$O_2^-$
Radical hydroxyle	$OH^\bullet$
Radical hydroperoxyde	$HOO^\bullet$
Radical peroxyde	$ROO^\bullet$
Radical alkoxyde	$RO^\bullet$
Radical oxyde nitrique	$NO^\bullet$
Peroxinitrite	$ONOO^\bullet$
<b>ERO (non radicalaires)</b>	<b>Formule chimique</b>
Hydroperoxyde	$ROOH$
Hypochlorite	$ClOH$
Ozone	$O_3$
Peroxyde d'hydrogène	$H_2O_2$

#### 4.1.2. Les radicaux libres : Définition, Production et Principaux radicaux libres oxygénés (ROS)

Un radical libre est une espèce chimique : atome ou molécule ayant un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui la rend extrêmement réactive et instable (Vansant, 2004). Ce composé peut réagir avec les molécules les plus stables pour appairer son électron. Il peut soit arracher un électron (se comportant comme un oxydant) soit en céder un (agissant alors comme un réducteur). Cette première réaction conduit généralement à la formation en chaîne de nouveaux radicaux. L'ensemble des radicaux libre et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène (Favier, 2003). La présence d'un électron célibataire confère aux radicaux libres une grande réactivité et ils peuvent être aussi bien des espèces oxydantes que

réductrices, cette instabilité rend difficile leur mise en évidence au niveau des différents milieux biologiques (Bonfont-Rousselot *et al.*, 2003).

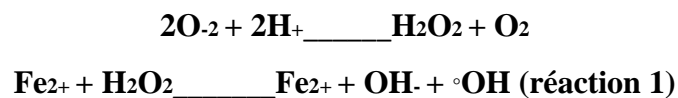
Toute réaction biochimique faisant intervenir l'oxygène moléculaire est susceptible de libérer des radicaux libres (Vignais *et al.*, 2002). C'est ainsi que la chaîne respiratoire provoque une libération importante des radicaux libres (Barouki, 2006). D'autres activités enzymatiques fournissent aussi des espèces réactives oxygénées (ERO), notamment les NADPH oxydases au cours de l'inflammation (Demoffarts *et al.*, 2005) et les cytochromes P450 au cours de la détoxification des xénobiotiques. Ainsi, la mitochondrie (Morrow, 2000), la membrane plasmique et le réticulum endoplasmique sont les sièges principaux de libération d'ERO (Barouki & Morel, 2001).

### Principaux radicaux libres oxygénés (ROS)

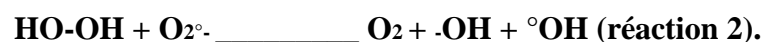
- l'anion superoxyde (**O<sub>2</sub><sup>-</sup>**) : la molécule d'oxygène, mise en présence d'une quantité d'énergie suffisante, peut acquérir un électron supplémentaire et former ainsi l'anion superoxyde. Cet anion intervient comme facteur oxydant dans de nombreuses réactions.

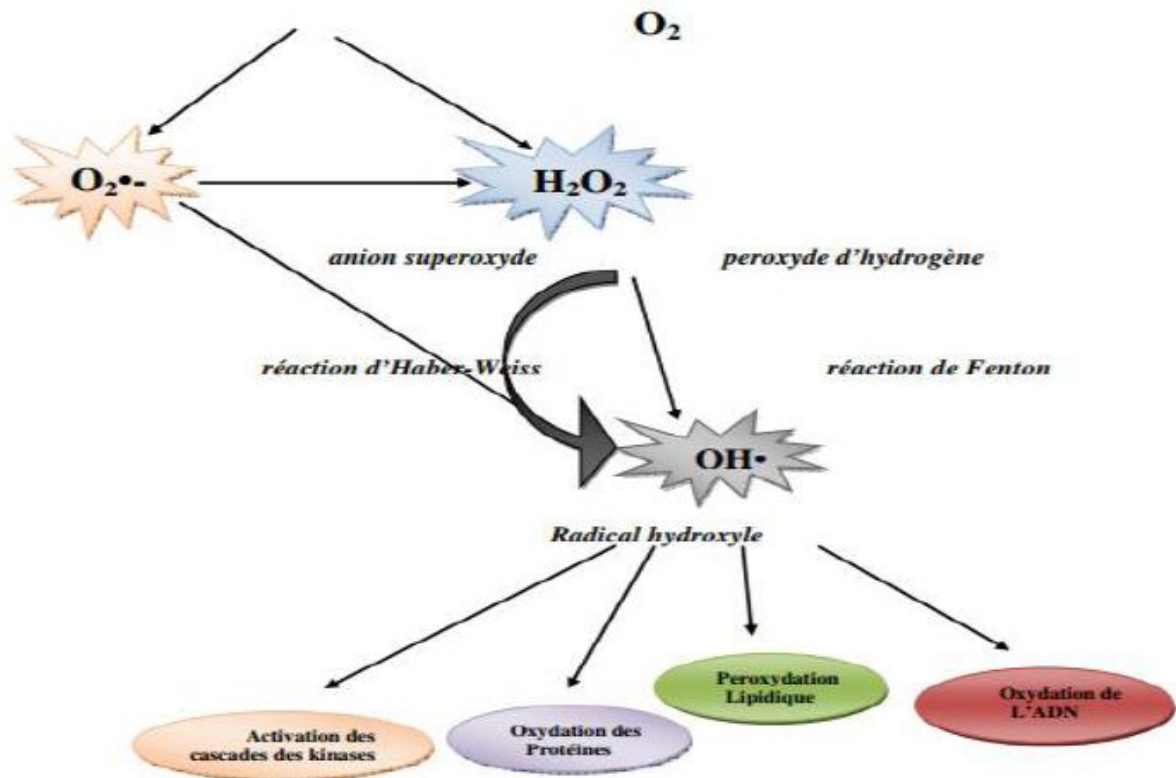


- le radical hydroxyle (**OH<sup>-</sup>**) : Il est très réactif vis-à-vis des structures organiques et joue un rôle initiateur dans l'auto-oxydation lipidique, il se forme soit par la dégradation du peroxyde d'hydrogène en présence de métaux de transition sous leur forme réduite :



Ou par son action avec le radical superoxyde selon la réaction de haber Weiss (Figure 24):





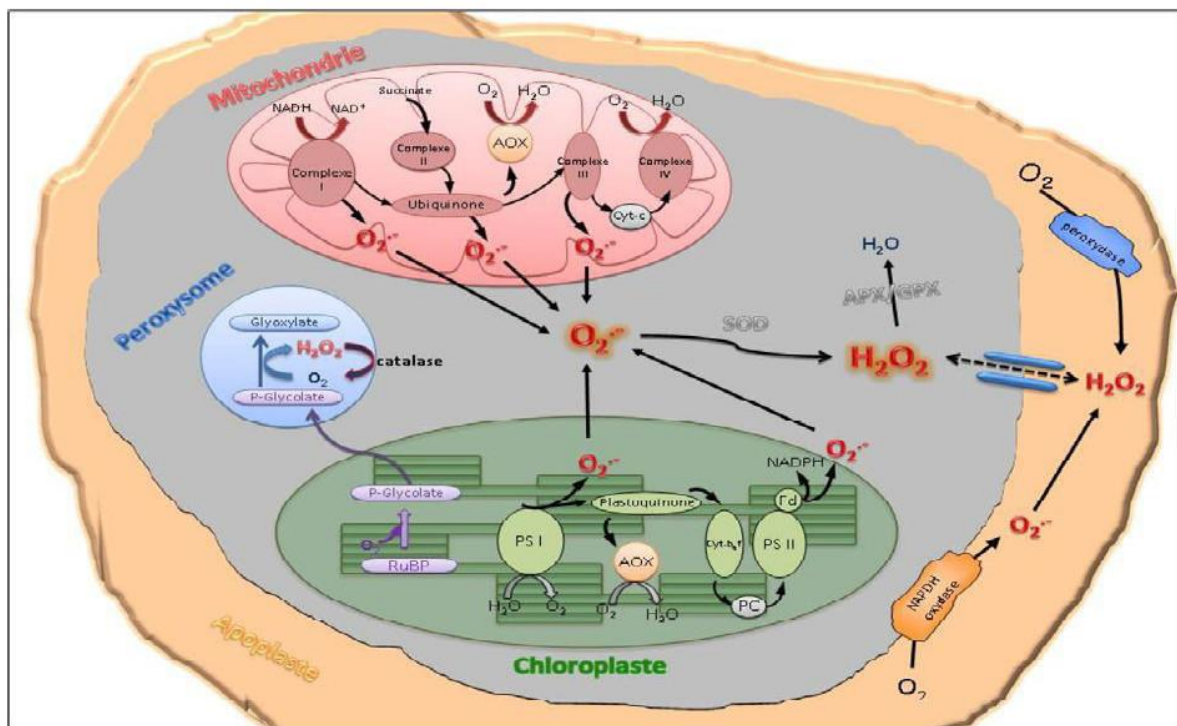
**Figure 24.** Schéma des différentes formes de ROS

- l'oxygène singulet ( $O_2^-$ ) : forme «excitée» de l'oxygène moléculaire, est souvent assimilé à un radical libre en raison de sa forte réactivité. (Hadi, 2004).
- Le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) : également appelée dioxyde de dihydrogène ou eau oxygénée est très soluble dans l'eau, pénètre facilement les membranes biologiques, et peut provoquer la dégradation des protéines, la libération de  $Fe^{3+}$  ; l'oxydation de l'ADN, de lipides, ou encore de thiols, mais également l'inactivation d'enzymes. Sa capacité à traverser les membranes biologiques et à diffuser loin de son lieu de synthèse, fait du peroxyde d'hydrogène une des composantes utilisée par les cellules dans la signalisation intra et /ou intercellulaire. En effet, en faible concentration, il ne présente pas de toxicité pour la cellule. Cependant, en forte concentration, il induit une cytotoxicité par le biais des ROS qu'il génère. En se décomposant en anions hydroxyles et en radicaux hydroxyles par la réaction de Fenton en présence de sels métalliques ( $Fe^{2+}$  et  $Cu^-$ ), il devient toxique. La combinaison de l'anion superoxyde avec deux protons ( $H^+$ ) conduit à la formation du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ). Ce ( $H_2O_2$ ) n'est pas un radical libre mais une molécule avec tous ses électrons appariés qui présente une

toxicité par intermédiaire des réactions de type Fenton (Réaction 1) (présence de cations métalliques comme  $\text{Fe}^{2+}$  ou  $\text{Cu}^{2+}$ ) (Wardman & Candeias, 1996).

#### 4.1.3. Sources des espèces réactives de l'oxygène dans les plantes et la cellule végétale.

Les plantes photosynthétiques sont les plus exposées au stress oxydatif, en raison de leurs conditions oxygénées et l'abondance des photosensibilisants et les acides gras polyinsaturés (AGPI) dans l'enveloppe du chloroplaste. En présence de la lumière, les chloroplastes et les peroxyosomes sont la principale source de production des ROS (Parents *et al.*, 2008), alors que dans l'obscurité, les mitochondries semblent être les principales productrices des ROS (Figure 25).



**Figure 25.** Principaux sites de production des ROS dans la cellule végétale (Parent *et al.*, 2008)

Chez les plantes, il existe plusieurs sources cellulaires d'espèces réactives de l'oxygène localisées à divers endroits de la cellule (Tableau V), et qui sont produites de façon permanente durant le métabolisme normale et durant les périodes de stress. Ces sources incluent :

- Les chaînes de transport d'électrons (CTE) des chloroplastes.
- Les chaînes de transport d'électrons (CTE) des mitochondries.

- La photorespiration dans les peroxysomes.
- Les molécules photosensibilisatrices comme la chlorophylle.

Il existe d'autres sources importantes de production des ROS dans la plante, telles que les réactions de désintoxication catalysées par le cytochrome P450 dans le cytoplasme et dans le réticulum endoplasmique et les réactions de réduction catalysées par l'oxalate oxydase et l'amine oxydases dans l'apoplaste des cellules végétales (Gill & Tuteja, 2010).

**Tableau V.** Origine et localisation des espèces réactives d'oxygène (Smirnov, 2005).

Origine	Localisation	ERO
Photosynthèse, PSI ou PSII	Chloroplaste	$O_2^\circ$
Respiration (transport d'électrons)	Mitochondrie	$O_2^\circ$
Glycolate oxydase	Peroxisome	$H_2O_2$
Chlorophylles excitées	chloroplaste	$O_2^\circ$
NADPH oxydase	Membrane cellulaire	$O_2^\circ$
$\beta$ -oxydation des acides gras	Peroxisome	$H_2O_2$
Oxalate oxydase	Apoplaste	$H_2O_2$
Xanthine oxydase	Peroxisome	$O_2^\circ$
Peroxydases, $Mn^{2+}$ et NADH	Membrane cellulaire	$H_2O_2$
Amine oxydase	Apoplaste	$H_2O_2, O_2^\circ$

#### 4.2. Relation entre le stress hydrique et le stress oxydatif.

Les cellules tendent à ajuster leur propre potentiel hydrique en rétablissant l'homéostasie ionique cellulaire, que ce soit par la compartimentation vacuolaire des ions toxiques ( $Na^+$  et  $Cl^-$ ) et (ou) leur exclusion hors de la cellule. En revanche, si cela n'est pas suffisant, la plante devra utiliser un autre moyen pour faire face au stress hydrique, qui consiste à synthétiser et accumuler des solutés organiques osmoprotecteurs, principalement des composés aminés et des sucres. Sur le plan énergétique, cette stratégie osmotique est beaucoup plus coûteuse que la régulation de l'homéostasie ionique. D'autre part, cette forme d'esquive induit chez la plante la production de formes actives d'oxygène qui provoquent un stress oxydatif dont la réduction des dommages pourrait se faire par le biais de la production d'antioxydants.

Dans certaines conditions environnementales, les plantes produisent des radicaux libres, formes très réactives de l'oxygène capables de détruire les structures cellulaires. Les mécanismes de défense enzymatique dont disposent les végétaux pour assurer le « nettoyage cellulaire de ces radicaux libres ne sont pas toujours suffisants. Les premiers essais de

transgénèse, ayant pour but d'améliorer l'efficacité des enzymes impliquées dans ces défenses, sont encourageants.

La sécheresse est un syndrome complexe impliquant non seulement la privation de l'eau mais également la limitation nutritive, la salinité, et les stress oxydatifs. D'ailleurs, les niveaux de la lumière qui sont optimaux pour la photosynthèse au niveau des plantes bien alimentées en eau deviennent excessifs pour celles souffrant de la privation de l'eau (Luna *et al.*, 2004). La fermeture des stomates lors d'un déficit hydrique limite le flux de CO<sub>2</sub> dans les feuilles. Ainsi, l'assimilation photosynthétique du carbone est diminuée en faveur de l'absorption d'oxygène photorespiratoire. Le processus de la fermeture stomatique et le perfectionnement du flux par la voie photorespiratoire augmentent la charge oxydante dans les tissus. Ces deux processus produisent des espèces réactives de l'oxygène (ROS), en particulier le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).

Ce dernier est également produit autant que messenger secondaire de l'acide abscissique quant à la fermeture des stomates (Pei *et al.*, 2000). La production de superoxyde par la chaîne de transport photosynthétique d'électron, par l'intermédiaire de la réaction de Mehler, est exacerbée par la sécheresse (Noctor *et al.*, 2002).

#### **4.2.1. Risque de production des espèces réactives de l'oxygène sous stress hydrique et Moyens de défense.**

Sous stress hydrique, quand l'utilisation de la lumière absorbée par la photosynthèse, la photo respiration ou encore par la dissipation thermique n'est pas suffisante pour faire face à l'excès de l'énergie d'électrons, la production des molécules fortement réactives a eu lieu (Foyer & Mullineaux, 1994). Il en résulte le transfert des électrons à l'oxygène par le Photosystème I (PS I), ce qui génère des espèces réactives de l'oxygène (ROS).

Le système antioxydant détruit ROS afin de préserver l'intégrité de la cellule. Ce système fait intervenir des molécules enzymatiques et non enzymatiques qui ne sont pas réparties de façon uniforme dans la cellule (Bray *et al.*, 2000). Différents mécanismes permettent de contrecarrer cette accumulation de radicaux toxiques. Un premier consiste à dissiper l'énergie lumineuse sous forme de chaleur (Tardieu *et al.*, 2006), les caroténoïdes sont impliqués dans ce mécanisme via le cycle des xanthophylles (Munné-Bosch & Alegre, 2000). Un deuxième mécanisme est la détoxification, qui consiste à empêcher l'accumulation d'hydroxyles en intervenant à différentes étapes de leur formation.



Les superoxydes dismutases (SOD) produisent  $H_2O_2$  à partir des superoxydes et  $H_2O_2$  peut ensuite être éliminé aussi bien par les catalases ou encore par les enzymes et les métabolites du cycle ascorbate-glutathione. Les catalases sont induites par  $H_2O_2$ , les ascorbates peroxydases sont induites par différents stress dont la sécheresse (Inze & van Montagu, 1995), et les SOD sont induites par la sécheresse et l'ABA (Kaminaka *et al.*, 1999 ; Guan & Scandalios, 1998).

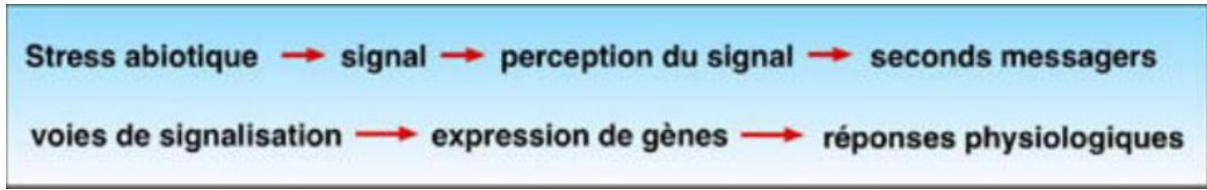
La capacité antioxydante dépend fortement de la sévérité du stress, de l'espèce et du stade de développement. L'acclimatation à la sécheresse est généralement liée à une activité élevée des enzymes antioxydantes, rendant ainsi la concentration du ROS relativement faible (Smirnoff, 1998 ; Dat *et al.*, 2000). ROS peuvent aussi servir comme des messagers secondaires pour l'activation des réponses défensives (Dat *et al.*, 2000).

#### 4.2.2. Le signal Redox sous conditions de sécheresse.

En conditions optimales, les ROS (REACTIVE OXYGEN SPECIES) sont produites d'une façon contrôlée et elles ont des fonctions importantes telles que la biosynthèse des parois cellulaires et la signalisation de « **Redox** » (Foyer & Noctor, 2000). Cependant, les conditions contraignantes mènent à une surproduction des ROS. Et pour contrecarrer leur toxicité, les cellules sont bien équipées par un système antioxydatif fortement efficace, qui renferme les enzymes du cycle ascorbate-glutathion, la superoxyde dismutase (SOD) Beaucoup d'études ont montré que la tolérance des plantes au stress hydrique est liée à la surproduction de la SOD dans les chloroplastes (Bowler *et al.*, 1992 ; Martinez *et al.*, 2001), les peroxydases (POX) et la catalase (CAT) et des molécules comprenant l'acide ascorbique, le glutathion et les composés phénoliques (Foyer & Noctor, 2000 ; Aroca *et al.*, 2003).

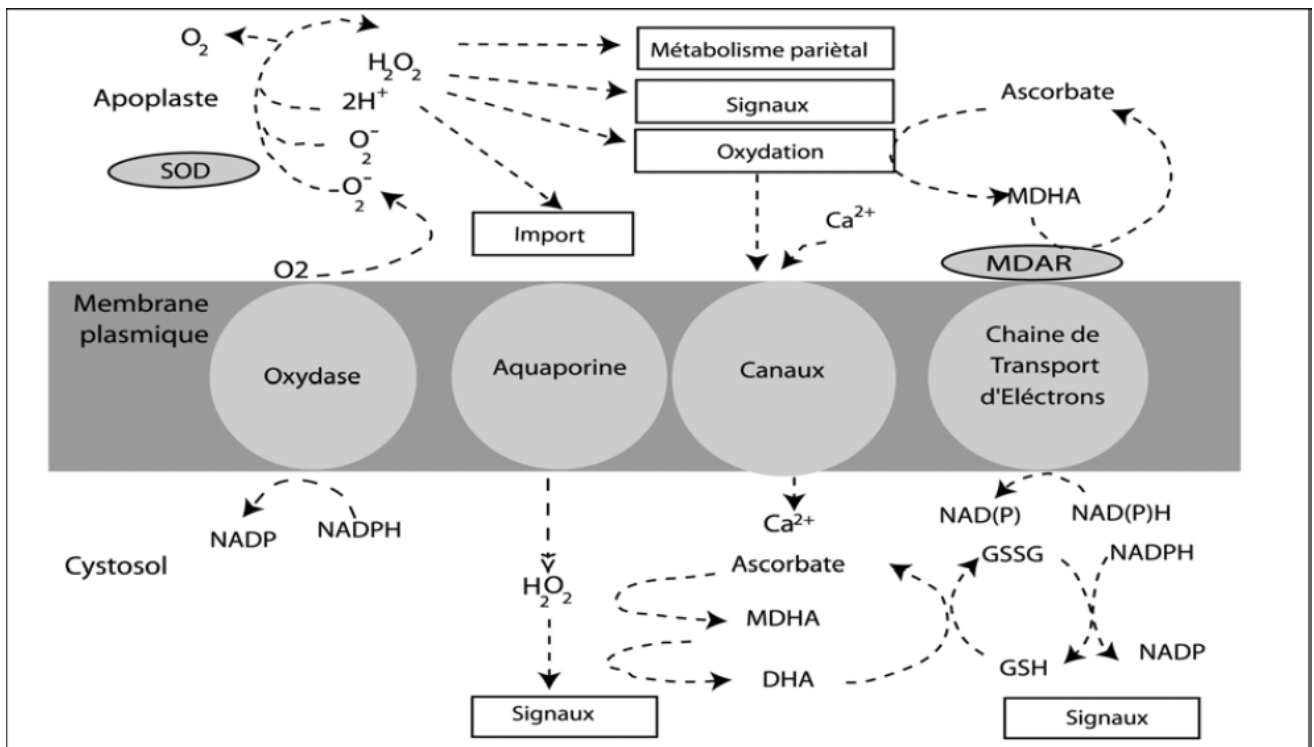
Il est bien établi que les plantes soumises au déficit hydrique sont exposées aux formes actives de l'oxygène (ROS) et à l'accumulation des radicaux libres liés aux dommages des membranes, à la peroxydation de lipides et à la dénaturation des protéines et de l'ADN (Smirnoff, 1993 ; Kaminska-Rozek & Pukacki, 2004 ; Tardieu *et al.*, 2006). Sous stress hydrique, les feuilles ferment leurs stomates afin d'empêcher une éventuelle perte d'eau (Figure 26), ce qui mène à une réduction de la disponibilité de  $CO_2$  pour la photosynthèse. Lorsque la photosynthèse est réduite, le taux de production du pouvoir redox domine le taux de sa réoxydation, principalement par réduction de  $CO_2$ . Ainsi, une réduction de transport photosynthétique d'électron se produit et génère excessivement ROS dans le chloroplaste (Asada, 1999). Différents mécanismes permettent de contrecarrer l'accumulation des produits

toxiques,  $H_2O_2$  agit comme un signal local ou systémique pour la fermeture des stomates (Figure 26) et l'acclimatation des feuilles aux fortes irradiations (Pastori & Foyer, 2002).



**Figure 26.** Séquence de réaction au stress (Laurent & Ahmed, 1991)

Pourtant, si la production de  $H_2O_2$  dépasse un seuil, il s'en suit le déclenchement d'un programme de mort cellulaire.  $H_2O_2$  et autres composées redox jouent un rôle important dans la perception du stress de l'apoplaste, qui agit autant qu'un pont entre l'environnement et le symplaste.  $H_2O_2$  modifie aussi le flux de calcium dans les cellules et, par conséquent change les voies de signalisation induites par le calcium (Figure 27). D'autres systèmes de transport peuvent également être modifiés s'ils sont sujets d'une régulation redox. Pour la régénération, les formes oxydées d'ascorbate doivent agir avec la membrane plasmatique ou retourner au cytosol du fait que l'apoplaste a peu ou pas de puissance réductrice.



**Figure 27.** Mécanismes de signalisation de  $H_2O_2$ /antioxydant à travers la membrane plasmique d'après Pastori & Foyer (2002).



Les formes réduites et oxydées d'ascorbate agissent elles-mêmes en tant que molécules de signaux de traduction ; par exemple, le monodehydroascorbate (MDHA) est impliqué dans la régulation du cycle de cellules, tandis que le dehydroascorbate (DHA) régule la croissance cellulaire. D'ailleurs, par interaction avec le glutathion, DHA peut déclencher d'autres séquences de signalisation puisque les formes réduites (GSH) et oxydées (GSSG) du glutathion ont également des effets sur l'expression des gènes (Noctor *et al.*, 2000).

Une monodehydroascorbate réductase liée à la membrane plasmique (MDAR) pourrait être impliquée dans le signal de traduction par l'intermédiaire d'une chaîne de transport d'électrons. Le superoxyde lui-même pourrait déclencher une série indépendante de signaux, mais il se convertit en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> par l'action d'une superoxyde dismutase apoplastique (Bolwell *et al.*, 1995).

#### **4.3. Conséquences du stress oxydatif**

Le stress oxydatif est un type d'agression des constituants de la cellule due aux espèces réactives oxygénées et aux espèces réactives azotées oxydantes qui vont s'attaquer aux membranes cellulaires, aux protéines et à l'ADN, la présence des ROS (qui peuvent être soit des radicaux, mais aussi des molécules non radicalaires) par leur nature instable, sont capables de provoquer des conséquences potentiellement graves pour la cellule, qui s'expriment par : des cassures et des mutations d'ADN, inactivation des protéines et des enzymes, oxydation des pigments, des sucres, mise en place de processus de peroxydation lipidique au sein des acides gras polyinsaturés des lipoprotéines ou de la membrane cellulaire.

Un stress oxydant peut être induit lors de la surproduction d'espèces réactives et / ou par suite de l'inhibition des systèmes antioxydants qui peuvent être inactivés, soit directement, soit par défaut de synthèse. Il correspond à un déséquilibre entre molécules pro-oxydantes (espèces réactives oxygénées) et molécules de défenses anti oxydantes (vitamines et enzymes) au niveau cellulaire (Peltier *et al.*, 2004).

Ces composés oxydants formés vont oxyder des molécules cellulaires, ces dégâts étant soit prévenus soit réparés à l'aide de systèmes complexes dont font partie les SODs, les catalases, les peroxydases ou encore les méthionines sulfoxyde réductases. Les dommages contre lesquels ces mécanismes luttent peuvent toucher bon nombre de processus physiologiques et peuvent aboutir à la mort des cellules pour les cas les plus sévères.

#### 4.3.1. Intérêt du dosage du Malonedialdéhydes (MDA).

La peroxydation des lipides est le symptôme le plus attribué aux dommages oxydatifs et a souvent employé comme indicateur de stress oxydatif (Zhang & Kirkham, 1994). La teneur en malonyldialdéhyde (MDA), un produit final de peroxydation des lipides. Les taux élevés de MDA signent donc un stress oxydatif portant notamment sur l'oxydation des lipides (Chebab *et al.*, 2009).

Il représente le marqueur le plus utilisé en peroxydation lipidique, notamment par la simplicité et la sensibilité de la méthode de dosage. Après traitement par l'acide à chaud, les aldéhydes réagissent avec l'acide thiobarbiturique (TBA) (Benhamdi *et al.*, 2014) pour former un produit de condensation chromogénique consistant en 2 molécules de TBA et une molécule de MDA.

De nombreux laboratoires dans le monde reposent sur ce dosage pour évaluer l'augmentation ou la diminution du MDA afin d'évaluer les effets des traitements antioxydants, ce paramètre constitue un indicateur précoce d'une agression toxique et par conséquent il peut être utilisé comme biomarqueur du stress oxydatif.

#### 4.3.2. Oxydation des protéines.

Les protéines sont aussi susceptibles d'être oxydées par les ROS (Benhamdi *et al.*, 2014), de façon comparable à l'oxydation des lipides. Cette oxydation provoque une carbonylation (levine, 2002). Ces réactions, fréquemment influencées par les cations métalliques comme le  $\text{Cu}^{2+}$  et le  $\text{Fe}^{2+}$  peuvent provoquer l'oxydation d'un certain nombre d'acides aminés des protéines en particulier (arg, his, lys, **proline**, thr et trp) donne les groupes carbonyles libres qui peuvent inhiber ou modifier l'activité de la protéine et augmenter la susceptibilité à l'attaque protéolytique (Moller *et al.*, 2007).

#### 4.4. Les systèmes de défense antioxydants.

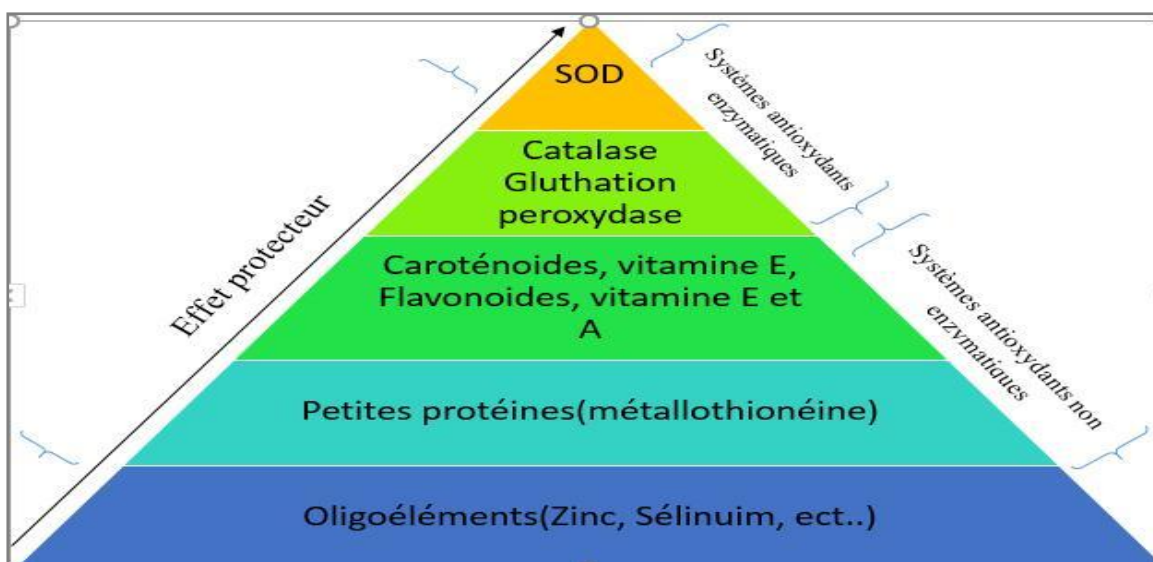
Les organismes vivants possèdent des systèmes de défense ; ainsi à l'état physiologique il existe un équilibre "naturel" entre la production des radicaux libres et les systèmes antioxydants. Sous certaines conditions, il apparaît un déséquilibre provoqué soit par une production exagérée de radicaux libres soit par une diminution des défenses antioxydantes sous l'effet de certains stimuli pathologiques endogènes ou exogènes (Benhamdi *et al.*, 2014) .

Le système antioxydant détruit ROS afin de préserver l'intégrité de la cellule. Ce système fait intervenir des molécules enzymatiques et non enzymatiques qui ne sont pas réparties de façon uniforme dans la cellule (Bray *et al.*, 2000).

Au sens large ils représentent l'ensemble des molécules susceptibles d'inhiber directement la production de limiter la propagation ou de détruire les ROS (Sies 1997). Ces antioxydants peuvent agir en réduisant ou en dismutant ces espèces, en les piégeant pour former un composé stable, une fois les taux des ROS fortement baissés, les systèmes enzymatiques interviennent et permettent la réparation.

Il existe 3 types de défenses (Figure 28) :

- 1) - Les enzymes qui existent à l'état endogène, défendent les cellules contre les radicaux libres : les principaux systèmes enzymatiques comprennent les superoxydes dismutases (SOD), la catalase (CAT).....
- 2) - Les protéines chélatrices du fer comme la transferrine et l'hémossidérine ou du cuivre comme l'albumine : ce système bloque les ions métalliques impliqués dans la réaction de Fenton.
- 3) - Les molécules antioxydantes ou piégeurs de radicaux libres comme la vitamine E, les caroténoïdes, les anthocyanes : ces molécules interviennent au niveau des membranes lipidiques.



**Figure 28a.** Pyramide des systèmes de défenses antioxydants

#### **4.4.1. Les principaux antioxydants non enzymatiques.**

Les antioxydants sont des agents redox qui réagissent (effet *scavenger*) avec les oxydants et soit stoppent, soit ralentissent les processus d'oxydation (Lapeyre *et al.*, 2005). Pendant ces réactions, les antioxydants s'oxydent en dérivés stables, ou persistent pendant un certain temps sous forme radicalaire. Ces formes radicalaires peuvent devenir des prooxydants.

Comme évoqué précédemment, ces antioxydants se divisent en deux principales catégories, les endogènes (molécules issues de la biosynthèse), et les exogènes (vitamines, oligo-éléments ou antioxydants de synthèse).

Les principaux antioxydants non enzymatiques sont : l'ascorbate, le glutathion, **la proline**, les  $\alpha$  Tocopherols, les caroténoïdes et les flavonoïdes

##### **4.4.1.1. Proline et ROS**

Outre son rôle dans le métabolisme primaire en tant que constituant des protéines, la proline est l'un des molécules souvent accumulée en réponse à des contraintes environnementales variées. Elle joue un rôle important dans la tolérance des plantes aux conditions de stress. Elle est considérée comme un antioxydant non enzymatique dont les plantes ont besoin pour agir contre les ROS formés lors d'un stress ou d'une déshydratation (Ben Rejeb *et al.*, 2012).

La proline joue plusieurs rôles : stabilisateur de protéine et de complexes macromoléculaires, piègeur de radicaux libres, régulateur du potentiel redox cellulaire, chélateur de inhibiteur de la LPO. Sa concentration intracellulaire dépend d'une régulation fine entre sa biosynthèse et sa dégradation (Gill & Tuteja, 2010). La capacité de la proline à piéger les ROS et à inhiber l'apoptose causé par ces derniers est une fonction importante dans la réponse à un stress cellulaire. Siripornadulsil *et al.*, (2002) ont rapporté que le taux de la proline libre est en corrélation avec l'état redox du GSH et les taux de le MDA.

#### **4.4.2. Les enzymes antioxydantes.**

Pour contrôler la production permanente des ROS, les organismes vivants possèdent des systèmes de défense qui les protègent contre les dommages des ROS. Ces défenses permettent de maintenir la concentration en espèces radicalaires à un taux basal (homéostasie

physiologique). En effet, elles possèdent une grande affinité pour les ROS, avec lesquelles elles réagissent très rapidement pour les neutraliser.

Les antioxydants enzymatiques (CAT, POD, SOD) et les enzymes du cycle d'ascorbate (APX) sont considérés comme la première ligne de défense contre les différentes espèces oxydantes. Leur rôle principal est de diminuer la quantité des ROS dans la cellule. Parfois, ces enzymes nécessitent des cofacteurs comme les oligoéléments (Zn, Cu, Mn, Se, Fe) pour exercer leur activité enzymatique.

Ces enzymes agissent en cascade et chacune d'elles assure une réaction, le produit de l'une est généralement le substrat de l'autre (Tableau VI).

**Tableau VI.** Différents mécanismes des systèmes antioxydants (Mittler *et al.*, 2001)

Mécanismes	Supprime (produit)	Localisation cellulaire
SOD	$O_2^{\cdot -}$ ( $H_2O_2$ )	Chl, Cyt, Mit et Per
Catalase	$H_2O_2$ ( $H_2O$ )	Mit, Per
Péroxidases	$H_2O_2$ ( $H_2O$ )	beaucoup de localisation
Ascorbate/cycle glutathion	$H_2O_2$ ( $H_2O$ )	Chl, Cyt, Mit, Per
Glutathion peroxydases	$H_2O_2$ ( $H_2O$ ), hydroperoxydes de lipide	Chl, Cyt, Mit, ER
Système Peroxyrédoxines	$H_2O_2$ ( $H_2O$ ), hydroperoxydes d'alkyles et Peroxynitrates	Chl, Cyt, Mit, Nucl
Systèmes Thiorédoxine	$H_2O_2$ ( $H_2O$ )	Chl, Cyt, Mit
Systèmes Glutarédoxines	$H_2O_2$ ( $H_2O$ ), hydroperoxydes d'alkyles et Peroxynitrates	Chl, Cyt, Mit, sec
Carotens et tocopherol	$O_2$ ( $O_2$ )	Chl

Avec :

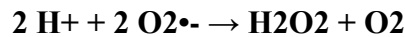
**Chl** : chloroplastes ; **Cyt** : Cytosol, **ER** : réticulum endoplasmique,  
**Mit** : mitochondries, **Nucl** : nucléique, **Per** : peroxymoses,  
**Sec** : Voies de sécrétion

#### 4.4.2.1. La superoxyde dismutase (SOD).

Cette métalloprotéine est classée en trois catégories, la SOD cytosolique (Cu- et Zn dépendante), la SOD mitochondriale (Mn-dépendante), et la SOD extracellulaire (Salvayre *et al.*, 2003).

La SOD est une des plus importantes enzymes cellulaires (Soulère *et al.*, 2002) possédant une fonction antioxydante. C'est l'enzyme antioxydante "anti- $O_2^{\cdot -}$ " la plus importante dans toutes les cellules vasculaires car elle catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en eau oxygénée.

L'absence de cette enzyme peut être létale.



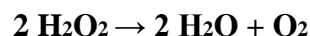
Les SOD se différencient par leur localisation cellulaire et par leur cofacteur métallique : SOD à Manganèse (Mn-SOD) dans les mitochondries, à ions cuivre ou à zinc (Cu/Zn-SOD) dans le cytoplasme et les mitochondries (Tableau VII). (Faridovich, 1995). Il a été nouvellement montré que la (Cu/Zn-SOD) était également présente dans l'espace inter membranaire. (Sturtz L. A *et al.*, 2001).

**Tableau VII.** Les types de superoxyde dismutase.

Superoxyde dismutase	localisation intracellulaire	référence
Cu/Zn-SOD	cytosol	Duke & Salin, 1983; Bowler & <i>al.</i> , 1994
Fe-SOD	chloroplastes, (détectable dans mitochondries et le cytosol)	Salin, 1988; Bowler & <i>al.</i> , 1994; Asada, 2000
Mn-SOD	exclusivement mitochondriales	Bowler & <i>al.</i> , 1994; Del Rio <i>et al.</i> , 2003

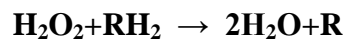
#### 4.4.2.2. La catalase (CAT).

Sont des enzymes majoritairement peroxysomales catalysant la dismutation du peroxyde d'hydrogène (Arora *et al.*, 2002). La catalase est une enzyme intracellulaire, localisée principalement dans les peroxysomes. Elle catalyse la réaction de détoxification du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (généralement produit par la SOD).



#### 4.4.2.3. La peroxydase (POD).

Sont une large famille multigénique d'enzymes hémiques catalysant la réduction d'un substrat oxydé en utilisant de nombreux co-substrats comme donneurs d'électrons. (Arora *et al.*, 2002).



Dans la cellule végétale, la POD est impliquée dans plusieurs processus physiologiques : la lignification et la synthèse de la paroi cellulaire, le catabolisme des auxines et la défense contre le stress environnemental (Kim *et al.*, 2010).

Dans les tissus d'un certain nombre de plantes, l'activité de la POD est corrélée de manière significative avec les niveaux élevés de Cu (Mocquot *et al.*, 1996), de Zn (Weckx &

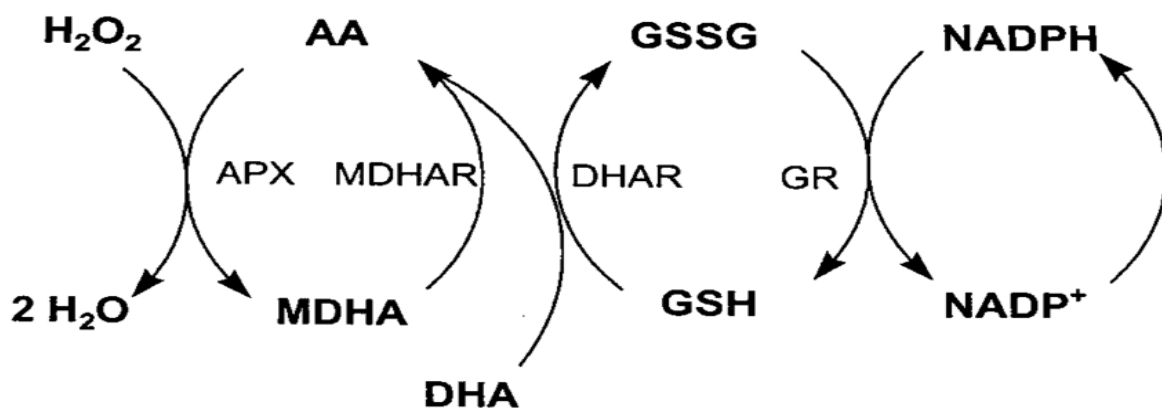
Clijsters, 1997) et de Cd (Benhamdi *et al.*, 2014). L'augmentation de son activité joue un rôle clé dans le mécanisme de défense cellulaire contre le stress oxydatif (Assche & Clijsters, 1990).

#### 4.4.2.4. Les enzymes du cycle de l'ascorbate : L'ascorbate peroxydase (APX).

Ce sont des peroxydases à hème également, qui réduisent majoritairement  $H_2O_2$  (Raven *et al.*, 2004). Comme leur nom l'indique, ces enzymes utilisent l'ascorbate pour leur régénération. Elles dépendent donc principalement du cycle ascorbate-glutathion.

Ces enzymes sont relativement bien connues, notamment leur mécanisme d'action. Selon l'état d'oxydation du fer au niveau de l'hème, la structure du site actif est modifiée, régulant ainsi l'activité de cette peroxydase (Badyal *et al.*, 2008). La première étape est la formation d'un intermédiaire oxydé par 2 électrons qui sera ensuite réduit par un substrat de nature organique généralement. Cette première étape est sujette à un mécanisme acido-basique, une histidine conservée au niveau du site actif étant le catalyseur acido-basique du clivage de la molécule d' $H_2O_2$  (Hiner *et al.*, 2002).

Les plantes possèdent plusieurs isoformes d'APX réparties dans différents compartiments subcellulaires, notamment le chloroplaste et le cytosol. Dans le chloroplaste, on trouve des isoformes dans le stroma et d'autres accrochées aux thylacoïdes. Bien que très similaires, ces deux types d'APX diffèrent par la présence d'une extension C-terminale pour l'ancrage dans les membranes thylacoïdales.



AA : acide ascorbique ; MDHA : monodéhydroascorbate ; DHA : déhydroascorbate ; GSH : glutathion réduit ; GSSG : glutathion oxydé ; NADPH : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit ;  $NADP^+$  : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate oxydé ; APX : ascorbate peroxydase (EC 1.11.1.11) ; MDHAR : monodéhydroascorbate réductase (EC 1.6.5.4) ; DHAR : déhydroascorbate réductase (EC 1.8.5.1) ; GR : glutathion réductase (EC 1.6.4.2).

Figure 28<sub>b</sub>. Le cycle ascorbate glutathion.

# **\*Deuxième Chapitre\***

## **Matériel et Méthodes**



## 1. Matériel végétal

L'étude a porté sur six variétés de céréales à consommation humaine d'origine locale et d'introduction : Gamgoum Rekham (GGR) et Haurani de blé dur (*Triticum durum* Desf.), Florence aurore 8193 (FA) et Mexipak de blé tendre (*Triticum aestivum* L.) et Manel et Saïda 183 d'orge (*Hordeum vulgare* L.). Les génotypes utilisés sont répertoriés selon le catalogue officiel de l'ITGC (Tableau VIII).

**Tableau VIII.** Génotypes étudiés et leur origine.

Genre	Nom du génotype	Son origine
<i>Blé dur</i>	Gamgoum Rekham (GGR)	I.T.G.C Tiaret Algérie
	Haurani	Syrie/Liban
<i>Blé tendre</i>	Florence aurore 8193(FA).	Tunisie-Algérie.
	Mexipak.	Mexique, Pakistan1973
<i>Orge</i>	Manel.	Tunisie.
	Saïda 183.	Algérie.

## 2. Conduite, organisation des essais et localisation des sites expérimentaux

Trois expérimentations contrôlées ont été menées : dans un premier temps et sous une serre en vitre située au Bio pole Chaâbet El Rasses dans des conditions semi-contrôlées, nous avons évalué l'aptitude de ces génotypes à croître en conditions de stress hydrique.

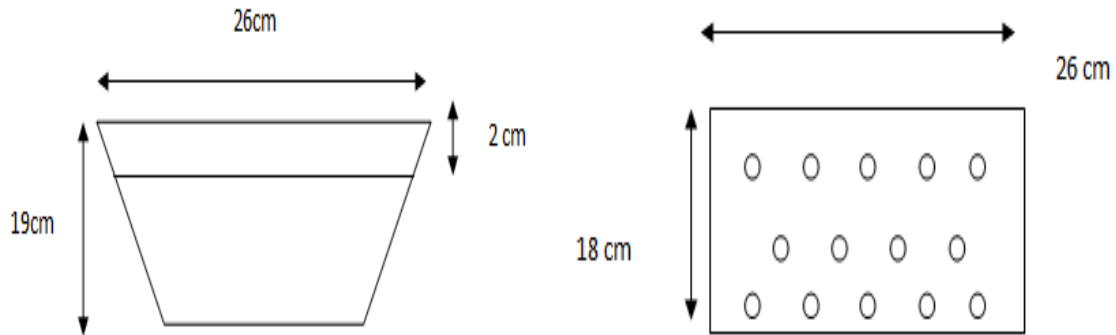
Ensuite et pour comprendre le comportement biochimique des plantes dans ces conditions déficitaires. Les essais et analyses sont réalisés au niveau de deux laboratoires : le laboratoire de développement et valorisation des ressources phylogénétique et le laboratoire de biologie et écologie ; les deux situés à Chaabet El Rassas, Université Mentouri, Constantine 1.

## 3. Premier essai sous serre

### 3.1. Préparation des pots et semis

Le semis est réalisé manuellement dans des pots de 19 cm de profondeur à section rectangulaire de 26 cm de longueur par 18 cm de largeur (19×26×18 cm) (Figure 29) contenant un sol agricole (argilo-limoneux) caractérisé par une capacité en Bac relativement élevée (41%). La densité de semis est de 14 grains / pot.

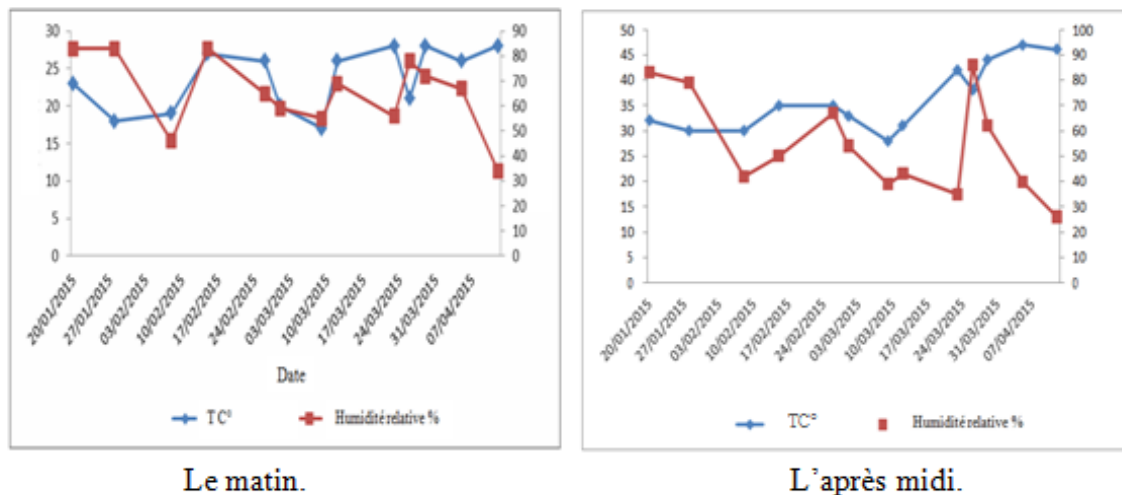
Avant le remplissage des pots, le sol est séché à l'air libre, puis débarrassé des débris, des végétaux, des cailloux et homogénéisé puis pesé de façon que tous les pots aient le même poids afin d'avoir les mêmes propriétés.



**Figure 29.** Dimensions et section du pot

### 3.2. Conditions expérimentales

Les pots sont installés dans une serre vitrée selon un dispositif expérimental en bloc de Fisher randomisé à raison de quatre répétitions pour chaque variété sous les conditions semi-contrôlées suivantes : (photopériode 15h, éclairage naturel, température 9°- 15°C la nuit, 17°- 28°C le matin et 20°- 45° l'après midi, humidité relative 60%) comme indiqué sur les deux graphiques de la (Figure 30).



**Figure 30.** Variation de la température ambiante (TC°) et de l'humidité relative % au niveau de la serre durant l'expérience.

Le total était de 24 pots triés par quatre rangées (dont deux choisies comme témoins) vu la nécessité de biomasse dans l'application des expériences (Figure 31), le développement des

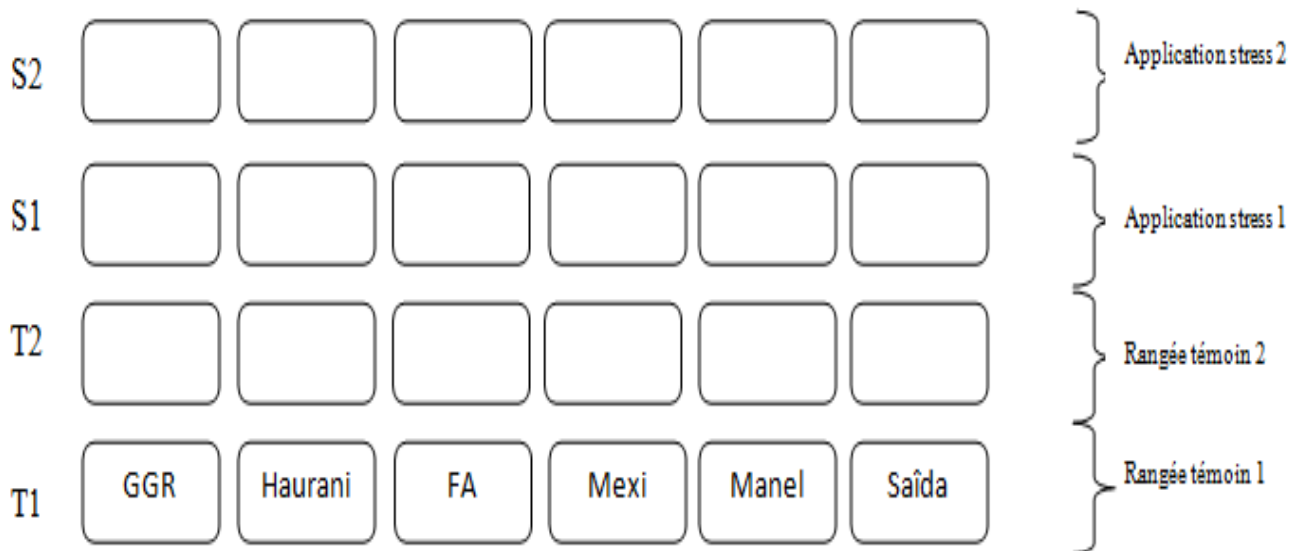
plantules se poursuit et l'arrosage est entrepris régulièrement par l'eau du robinet à raison d'une fois par semaine durant les premières phases et la quantité d'eau apportée était de 300 ml/pot au stade tallage identique pour la totalité des plantes de l'essai, nécessaire selon la capacité au champs du sol utilisé et pour être sous les mêmes conditions .

Puis l'irrigation est effectuée deux fois par semaine aux stades montaison-gonflement et dès le stade épiaison jusqu'à la maturité la fréquence d'arrosage a été ramenée à trois fois par semaine et la dose est augmentée à 600 ml/pot puisque les plantes ont formé une biomasse importante. L'essai est aussi entretenu régulièrement par des désherbages manuels et par un apport supplémentaire d'une fumure organique à la surface des pots au stade tallage.

### **3.3. Application du stress hydrique**

Les deux premières rangées (figure 31) contenant la première répétition des six génotypes utilisés ont été arrosées normalement et considérées comme témoin (alimentation hydrique non limitant sans déficit hydrique  $SDH \approx 80\%$  de la CC) durant tout le long de l'étude, cependant les deux rangés restantes ont subis un stress (restriction) hydrique de 20 jours chacune par l'arrêt d'arrosage, cela durant deux phases différentes du cycle de développement des céréales (en prenant en compte si la variété est tardive ou précoce) ; durant la phase Montaison pour la troisième rangé et Épiaison pour la quatrième (dernière), les plantes dans ce cas de traitement sont considérées comme stressées (avec déficit hydrique ADH), les échantillons foliaire (feuille étendard) des plantules témoins et stressés ont subis des mesures d'analyses au laboratoire et entretenus en raisons de trois répétitions par/ variété pour les deux traitements (ADH) et (SDH).

Après les analyses ces mêmes deux rangés (3 et 4) seront ré-arrosées de nouveau par la quantité habituelle d'eau et les échantillons sont prélevés après : 24h (après retour de l'arrosage<sup>1</sup> APR1) et après une semaine (après retour de l'arrosage<sup>2</sup> APR2) pour l'étude du comportement biochimique après la réhydratation comme pour les deux précédent traitements (SDH et ADH) (Figure 31).



**Figure 31.** Mise en place de l'essai

#### 4. Mesures et analyses effectuées

##### 4.1. Méthodes de dosage biochimiques

##### 4.1.1. Dosage de la proline

La proline ou acide pyrrolidine 2-carboxylique est l'un des vingt principaux acides aminés qui entrent dans la constitution des protéines. La proline est facilement oxydée par la ninhydrine ou tricetohydrindène (Larbier & Leclercq, 1992). C'est sur cette réaction que se base le protocole de mise en évidence de la proline dans les échantillons foliaires (El Jaafari, 1993).

Elle a été dosée sur le tiers médian de la feuille étandard par la méthode de Troll & Lindsley (1955) modifiée par Dreier & Goring (1974) : 100 mg de matière fraîche (prélevé au 1/3 médian de la feuille) ont été utilisés. Le fragment végétal est pesé, coupé en petits morceaux et introduit dans un tube à essai. On ajoute 2 ml de méthanol à 40% aux tubes à essai. L'ensemble des tubes est chauffé au bain marie à 85°C pendant 60 minutes.

Les tubes sont fermés hermétiquement (recouverts de papier aluminium pendant le chauffage pour éviter la volatilisation de l'alcool). Après refroidissement, on prélève 1 ml de la solution de chaque tube à essai, qu'on met dans un autre jeu de tubes et auquel on rajoute 2ml d'acide acétique et 1 ml d'une solution préparée par un mélange fait de 120 ml d'eau distillée puis 300 ml d'acide acétique (CH<sub>3</sub>COOH) plus 80 ml d'acide ortho phosphorique (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> d=1.7) plus 25 mg de ninhydrine (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>O<sub>4</sub>). On porte à ébullition à 100°C pendant 30 mn.

\*Résultat 1 : la solution vire au rouge. Après refroidissement, on ajoute 5 ml de toluène à la solution qui est agitée. (Pour la séparation de phases, le benzène toxique a été remplacé par le toluène conformément aux travaux de Hanson *et al.* (1977).

\*Résultat 2 : deux phases se séparent, une supérieure qui contient la proline et l'autre inférieure sans proline reste transparente.

Après avoir éliminé la phase inférieure, la phase supérieure est récupérée est déshydratée par l'ajout d'une spatule de Sulfate de Sodium Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhydre (pour éliminer l'eau qu'elle contient).

On détermine la densité optique (Do) à l'aide d'un spectrophotomètre sur une longueur d'onde de 528nm.

Le zéro du spectrophotomètre est réglé grâce au blanc de gamme composé (de 1 ml d'éthanol à 40% + 1 ml d'acide acétique + 1 ml du mélange + 25 mg de ninhydrine).

Les valeurs obtenues sont converties en taux de proline par le biais de l'équation de (Benlaribi, 1990) :

$$Y = 0.62 * DO(528) / MS \text{ (Benlaribi, 1990)}$$

**DO** : la densité optique

**MS** : la matière sèche (mg)

**Y** : teneur en proline  $\mu\text{mol}$  / mg de matière sèche.

#### **Détermination du poids sec :**

Le poids de la matière sèche des différents échantillons est déterminé après passage à l'étuve (80°C pendant 24 heures) des résidus de l'extraction.

La quantification se fait en raison de trois répétitions/variété pour les quatre traitements.

#### 4.1.2. Détermination des chlorophylles

La chlorophylle a et b est déterminée grâce à la méthode de Mac Kinney (1941) et Arnon (1949) simplifiée par (Francis *et al.*, 1970) qui utilise une solution d'acétone et d'éthanol, et a été effectuée de la façon suivante : pour chaque génotype nous avons prélevé 100 mg de matière végétale fraîche pesée juste après le prélèvement (dans le 1/3 médian de la feuille), les échantillons sont conservés dans des boîtes noires fermées pendant 48h à 30 C° et à l'obscurité après l'ajout de 10 ml d'une solution préparée à partir de (75% d'acétone et de 25% d'éthanol) à chaque boîte.

La lecture au spectrophotomètre se fait à deux longueurs d'ondes ; le zéro est réglé au blanc de gamme composé d'acétone et d'éthanol.

La densité optique est mesurée à 663 nm pour la chlorophylle a et à 645 nm pour la chlorophylle b. les concentrations en chlorophylle a et b exprimés en  $\mu\text{mol}/100\text{MF}$  sont données par les formules établies par (Maclachlan, 1963).

$$\text{CHL (a) } (\mu\text{mol/mgMF}) = 12.3\text{DO (663)} - 0.86\text{DO (645)}.$$

$$\text{CHL (b) } (\mu\text{mol/mgMF}) = 9.3\text{DO (645)} - 3.6\text{DO (663)}.$$

On a calculé par la suite les concentrations en chlorophylle données par la formule relative au solvant établi par Mc.Kinney-Arnon (1949).

$$\text{Chl (a+b)} = \text{Chl(a)} + \text{Chl(b)}.$$

$$\text{Et le rapport } \text{Chl(a)/Chl(b)}.$$

Cette mesure est effectuée en raison de trois répétitions/variété pour les quatre traitements.

### 4.1.3. Mesure du malonedialdéhyde (MDA) :

La peroxydation des lipides est le symptôme le plus attribué aux dommages oxydatifs et a souvent employé comme indicateur de stress oxydatif (Zhang & Kirkham, 1994). La teneur en malonyldialdéhyde (MDA), un produit final de peroxydation des lipides. Le MDA est dosé selon la méthode de Kosugi & Kikugawa, (1985) afin d'évaluer le niveau de la peroxydation des lipides, le principe du dosage repose sur la réaction qui se produit entre le malondialdéhyde et l'acide thiobarbiturique (TBA) formant le dérivé coloré MDA-TBA<sub>2</sub> de couleur rose absorbant à 532nm.

0.5 g des plantes fraîches, broyées en poudre par l'azote liquide, sont homogénéisées avec 5 ML d'une solution contenant de l'acide trichloroacétique (TCA) à 20% et de l'acide thiobabaturique (TBA) à 0,5% le mélange est incubé à 95) C pendant 30 min et la réaction est arrêtée par immersion des tubes dans la glace. Le mélange refroidi est centrifugé à 5000 g pendant 10 min à 25 °C. L'absorbance non spécifique à 600 nm est soustraite de l'absorbance à 532 nm et la concentration en MDA est déterminée par son coefficient d'extinction molaire 155 Mm<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> elle est exprimée en µmol/gramme de tissu.

## 4.2. Dosage des enzymes antioxydantes et des protéines

### 4.2.1. Préparation de l'extrait enzymatique des échantillons

Les échantillons destinés aux dosages des activités enzymatiques sont préparés selon le protocole de (Mukherjee *et al.*, 2010) suivant : les tissus végétaux (feuille étandard) (0.5) g sont broyés en une poudre fine avec un mortier et écrasés sous l'azote liquide, les protéines sont ensuite extraites à 4°C avec 3 ml de phosphate de potassium 50 mM à froid (PH 7.6) contenant 0.1% de triton X-100(v/v) et 1% de polyvinylpolypyrrolidone (PVPP) (w/v). L'homogénat est centrifugé à 4°C pendant 15 min à 12000g et le surnageant est utilisé pour les dosages.



**Figure 32.** Surnageant utilisé pour les dosages après centrifugation.

#### 4.2.2. Dosage de l'activité superoxyde dismutase (SOD)

L'activité de la SOD cytosolique est déterminée selon la méthode de Marklund , (1974). Le principe repose sur la capacité d'inhibition de l'autoxydation du pyrogallol par la SOD à 420nm.

Le dosage est réalisé dans un volume final de 3 ml à 2.85 ml de tampon tris HCL (0.1M ph 8.2) sont additionnés 0.1 ml de l'extrait enzymatique, 25 µl de la catalase (30 µm dans du tampon phosphate 0.1 M, PH9) et 25 µl de pyrogallol (24 mM préparé dans 10 mM de HCL).

Après incubation de 30S, le changement de l'absorbance est mesuré à 420 nm à chaque minute, dans un intervalle de temps de trois minutes. L'activité de la SOD est exprimée en Unité/mg de protéine. Une unité de l'activité de la SOD est définie comme l'enzyme qui causerait l'inhibition de 50 % de l'autoxydation de pyrogallol.

#### 4.2.3. Dosage de l'activité catalase (CAT)

Le dosage de la catalase est effectué selon la méthode de Chance & Maehly (1955). La décomposition du peroxyde d'hydrogène est déterminée par la diminution de l'absorbance à 240 nm ( $\epsilon=39.4 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ).

Le mélange réactionnel contient 2.9 ml de 0.1 M tampon phosphate PH7 et 0,1 ml de 20 mM du peroxyde d'hydrogène. La lecture est effectuée à 240 nm directement après l'addition de l'extrait enzymatique, à chaque minute, durant 2 ou 3 mn au maximum

#### 4.2.4. Extraction et dosage des peroxydases (POD)

Le dosage de la peroxydase est effectué selon la méthode de Chance & Machly (1967), le purpurogalline formé entre l' $\text{H}_2\text{O}_2$  et le pyrogallol, par l'action de la peroxydase, est déterminé par la mesure de l'absorbance à 420 nm contre un blanc.

0,5 ml de l'extrait enzymatique est ajouté au mélange réactionnel contenant 2 ml de tampon phosphate 0,1 M, PH 6,8, 1 ml de pyrogallol 0.01M et 1 ml  $\text{H}_2\text{O}_2$  0.05 M. le mélange est incubé à 25C° pendant 5mn. La réaction est arrêtée par l'addition de 1 ml de 2,5 N.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

Le blanc est préparé par l'addition de l'extrait enzymatique après  $\text{H}_2\text{SO}_4$  et l'activité enzymatique est exprimée en unité = 0,1 absorbance  $\text{mn}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  de protéine.



#### 4.2.5. Dosage de L'ascorbate peroxydase (APX)

Le dosage de l'activité de l'ascorbate peroxydase est réalisé selon la méthode de Nakano & Asada (1980). La réaction est basée sur l'oxydation de l'ascorbate par l'ascorbate peroxydase en présence de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 290 nm ( $\epsilon=2,8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ).

Le mélange réactionnel contient 4  $\mu\text{l}$  de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 50 mM et 40  $\mu\text{l}$  d'extrait enzymatique dans 956  $\mu\text{l}$  de tampon phosphate 50 mM, pH7 contenant de l'ascorbate à 0,5 mM. La lecture se fait directement chaque minute durant 2 à 3 min au maximum. L'activité enzymatique est exprimée en  $\mu\text{M mn}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  de protéine.

#### 4.2.6. Dosage des protéines

Les concentrations de protéines sont quantifiées selon la méthode de Lowry *et al*, (1951) Les quantités des protéines sont évaluées, en se référant à une droite établie par une gamme étalon de différentes concentrations de BSA.

### 5. Analyse statistique

Les résultats obtenus au cours de ces expérimentations correspondent à la moyenne de trois répétitions et sont testés par une analyse de la variance à deux facteurs, réalisée à l'aide du logiciel XL-Stat. Le test de Newman-Keuls a permis d'exprimer les moyennes et de donner le seuil de signification, Les histogrammes ont été réalisés par le logiciel Excel.

**\*Troisième Chapitre\***  
**Résultats et Discussion**

## 1. Relation teneur en proline et taux de chlorophylle

### 1.1. Variation de la teneur en proline aux cours des deux phases du cycle biologique (montaison, épiaison).

#### ➤ Phase montaison

Les résultats des teneurs en proline relatifs aux trois espèces (*Triticum durum* Desf. , *Triticum aestivum* L. et *Hordeum vulgare* L.) durant les quatre états hydrique étudiés SDH, ADH, APR1, APR2 relevés au cours de la phase montaison sont consignés respectivement dans le tableau IX et synthétisés dans l'histogramme représenté par la figure 33.

**Tableau IX.** Proline à la phase montaison.

Espèces et géotypes	<i>Triticum durum</i> Desf.		<i>Triticum aestivum</i> L.		<i>Hordeum vulgare</i> L.	
	GGR	Haurani	FA	Mexipak	Manel	Saïda 183
Témoin	19,79±6,31	17,29±3,73	15,88±2,04	10,07±5,39	15,22±1,13	3,62±4,03
Stress	22,22±3,40	48,97±2,94	56,43±2,56	42,88±2,59	42,14±0,63	35,91±4,35
Après 1 <sup>er</sup> réarrosage (24 h après)	22,03±3,76	40,99±7,59	48,96±5,78	17,45±6,37	27,74±4,89	8,05±6,34
Après 2 <sup>ème</sup> réarrosage (une semaine après)	8,42±4,16	6,23±2,62	5,47±2,08	3,83±2,35	7,82±2,59	15,27±5,48

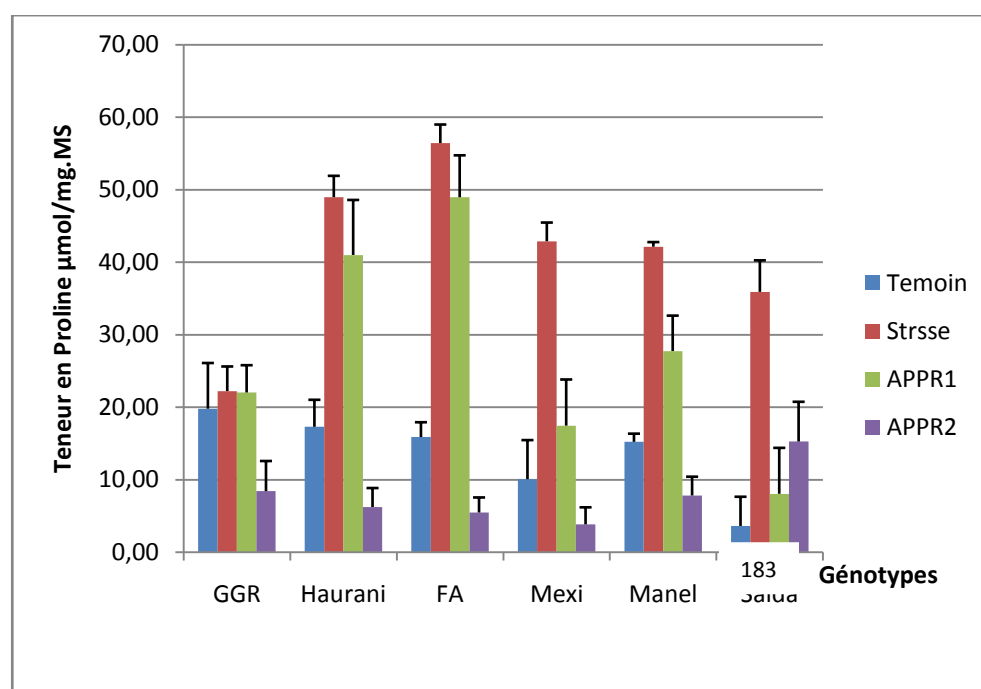
On peut observer que les résultats des échantillons témoins sont relativement élevés à l'exception de celui de Saïda 183 qui est de  $(3,62 \pm 4,03) \mu\text{mol}/\text{mg.MS}$ . En effet variant de  $(10,07 \pm 5,39)$  chez Mexipak, ils atteignent  $(19,79 \pm 6,31) \mu\text{mol}/\text{mg.MS}$  chez GGR. Ces valeurs (figure 33) sont multipliées par un facteur qui peut atteindre 9 par rapport aux moyennes proposées par Benlaribi & Monneveux (1988), Benlaribi *et al* (1990), Zerafa (2006) et Zerafa (2017). Par contre celles des échantillons stressés sont relativement basses par rapport à celles de ces mêmes auteurs.

Au niveau du lot ADH (ou les plantes sont soumises au stress), la teneur fluctue entre  $(56,43 \pm 2,56) \mu\text{mol}/\text{mg.MS}$  chez le blé tendre FA comme valeur maximale et qui dépasse 4 fois sa valeur témoin, ce qui confirme les travaux de Hireche (2006) : Chez les plantes soumises à

un régime de stress, une élévation de la teneur en proline est soulignée, un déficit hydrique plus grave amplifie davantage l'accumulation de la proline dans les tissus foliaires, atteignant pratiquement le double de celle du témoin (757,15 contre 345,72  $\mu\text{g} / 100 \text{ mg}$  feuilles, soit 119,01 % d'augmentation).

Après le 1<sup>er</sup> réarrosage, les résultats de 3 génotypes restent inchangés (GGR, Haurani et FA).

Après le 2<sup>ème</sup> réarrosage, les valeurs enregistrées rejoignent approximativement celles obtenues généralement chez les témoins.



**Figure 33.** Teneur en Proline des six génotypes étudiés durant les quatre traitements hydrique au stade Montaison.

La proline est connue pour être largement présente chez les plantes et s'accumule normalement en grande quantité en réponse aux stress environnementaux, aussi bien suite à une augmentation de sa production que par une réduction de sa dégradation (Roeder, 2006). Vu les expériences précédentes, l'accumulation ne commence qu'à partir du niveau 40% de la capacité au champ et la teneur ne s'estime qu'à partir de ce degré ou la plante ressent le manque d'eau. La teneur estimée est enivrant 2  $\mu \text{ mol} / \text{mgMS}$ , elle est référenciée par (Benlaribi & Monneveux, 1988) dans les conditions d'irrigation non limitées.

Selon les résultats obtenus de la majorité des génotypes qui ont suivi le même chemin d'accumulation, on peut suggérer le test proline comme un indicateur biochimique (indice) du déficit hydrique, la différence se pose en taux noté chez chaque variété et / ou genre, cette idée corrobore aux conclusions de plusieurs auteurs (Chaib, 1998 ; Malki, 2002 ; Chaib & Benlaribi, 2006 ; Redjamia ,2006 ; Zerafa ,2006 ; Merabta ,2011).

L'analyse de la variance ANOVA entre deux facteurs des résultats obtenus, révèle l'existence de différences « très hautement significatives » entre les génotypes et les traitements hydrique et interaction entre facteurs (Annexe 1).

Le test SNK a permis de classer le facteur génotype en trois groupes, le groupe A contient les deux variétés Haurani et FA avec les moyennes (28,373 et 31,687)  $\mu\text{mol}/\text{mg.MS}$ , le groupe B se singularise par le génotype Manel 23,336  $\mu\text{mol}/\text{mg.MS}$ , et le dernier Saida contient les variétés Mexipake, GGR et Saida qui ont comme moyennes (15,711-18,114 et 18,560)  $\mu\text{mol}/\text{mg.MS}$  respectivement.

- $A > B > C \Rightarrow \text{FA} \sim \text{Haurani} > \text{Manel} > \text{Mexipake} \sim \text{GGR} \sim \text{Saida} \Rightarrow 31,687 \sim 28,373 > 23,336 > 15,711 \sim 18,114 \sim 18,56$

Il a aussi classé le facteur traitement en quatre groupes : A stress(ADH), B (APR1), C témoin (SDH) et D (APR2).

- $A > B > C > D = > \text{Stress(ADH)} > (\text{APR1})24\text{h} > \text{Témoin(SDH)} > (\text{APR2})7\text{Jours} = > 41,020 > 27,571 > 14,018 > 7,910$

L'étude de corrélation entre les deux facteurs (variété et traitement hydrique) révèle l'existence de seize 16 groupements.

*Triticum* présenté par les variétés (Haurani, FA et Mexipake) marque les quantités maximales en cas de stress au stade montaison par rapport à l'orge donc nous confirmons les résultats de Shao *et al* (2006) qui a prouvé que les variétés de blé dur présentent des contenus importants de proline dans le jeune âge du cycle de vie des plantes lorsqu'elles sont exposée à trois niveaux de déficit hydriques :75%, 55% et 45% de la capacité au champ avec des valeurs croissantes respectivement par rapport à *Hordeum*.

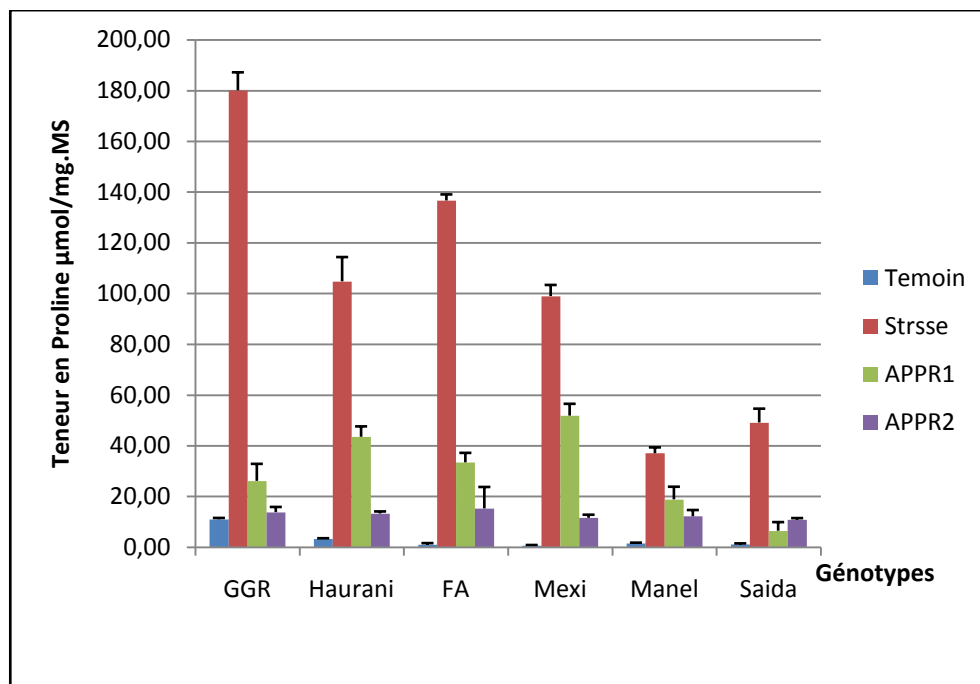
➤ Phase épiaison

Il en est de même pour la phase épiaison où les valeurs moyennes dégagées sont présentées dans le tableau X et l'on remarque dans ce cas des évolutions normales chez les génotypes du genre *Triticum* pour les trois premiers traitements (figure 34), ce fait pourrait être expliqué par une aptitude, de la part de certains génotypes, à accumuler plus rapidement (mais pas forcément en plus grandes quantités) la proline lors d'une contrainte hydrique, ce qui rendait le résultat du dosage fortement dépendant du délai séparant le début de la contrainte hydrique de la date de prélèvement de l'échantillon comme il a été préconisé par Benlaribi & Monneveux (1988).

**Tableau X.** Proline à la phase épiaison.

Espèces et génotypes	<i>Triticum durum</i> Desf.		<i>Triticum aestivum</i> L.		<i>Hordeum vulgare</i> L.	
	GGR	Haurani	FA	Mexipak	Manel	Saïda 183
Témoin	11,03±0,50	3,29±0,23	1,00±0,60	0,59±0,27	1,52±0,26	1,11±0,38
Stress	180,06±7,10	104,79±9,56	136,67±2,38	98,99±4,38	37,04±2,30	49,15±5,45
Après 1 <sup>er</sup> réarrosage (24 h après)	26,14±6,70	43,53±4,08	33,44±3,73	51,86±4,65	18,85±4,97	6,49±3,41
Après 2 <sup>ème</sup> réarrosage (une semaine après)	13,80±2,06	13,29±0,80	15,29±8,45	11,58±1,23	12,19±2,46	10,90±0,57

Cependant, les valeurs restent quand même relativement élevées après le 2<sup>ème</sup> réarrosage et fluctuent de [(10,90 ± 0,57) chez l'orge Saïda183 à (15,29 ± 8,45) µmol/mg.MS chez FA] au lieu de rejoindre approximativement celles du lot témoin qui varient de [(0,59±0,27) à (3,29±0,23)] à l'exception de GGR qui demeure dans un niveau stable proche du témoin (11,03±0,50 en SDH et 13,80±2,06 en APR2).



**Figure 34.** Teneur en Proline des six génotypes étudiés durant les quatre traitements hydrique au stade Épiaison.

Pour ce qui est des deux génotypes d'orge, les valeurs des trois derniers traitements restent basses par rapport à celles du genre *Triticum* et également comparées aux données de nombreux auteurs.

L'ANOVA entre deux facteurs des résultats obtenus, révèle l'existence de différences « très hautement significatives » entre les génotypes et les traitements hydrique et interaction entre facteurs (Annexe 2).

Le test SNK classe le facteur variété des six génotypes étudiés en quatre groupes différents :

Le groupe A regroupe Manel et GGR, le C contient Mexipake et Haurani et les groupes B et D se singularisent et englobent les deux variétés FA et Saida chacun respectivement.

- **A>B>C>D** =>Manel~ GGR > FA > Haurani ~ Mexi > Saida => 59,070 ~ 57,757 >46,599 > 41,226~ 40,753 >34,553.

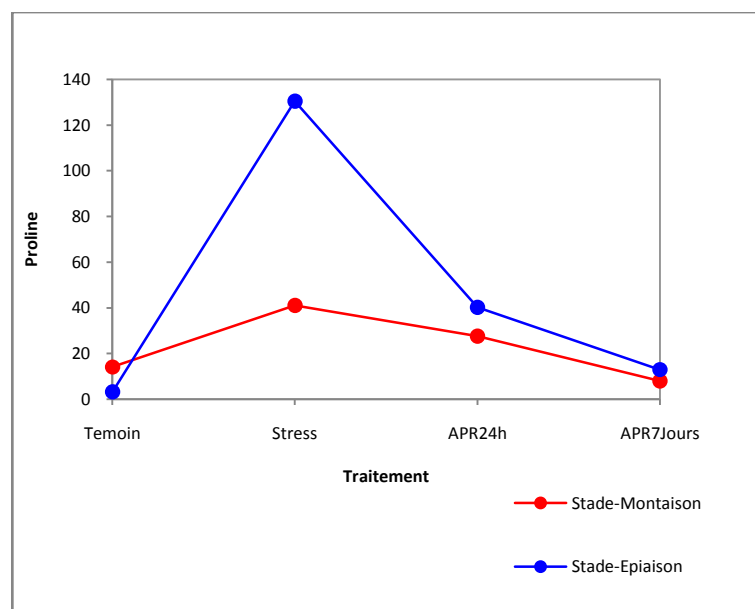
Et classe le facteur traitement en quatre groupes distincts aussi :

- **A>B>C>D** => Stress > APR1 > APR2 > Témoin => 131,289 > 40,193 > 12,842 > 3,090.

L'étude de corrélation entre les deux facteurs (variété et traitement hydrique) révèle l'existence de dix groupements.

Dans ce contexte on note que le taux de proline pendant la phase épiaison enregistre deux fois ses valeurs par rapport à la phase montaison, même avec l'application d'une unique longueur de temps pendant les deux phases (20 jours), qui à notre sens, peut être due à deux facteurs non contrôlés : la température comme il a été signalé par (Monneveux & Nemmar, 1986 ; Chaitanya *et al* , 2001) et la luminosité proposé par (Joyce *et al* , 1992 ; Hayashi *et al* (2000) : on attribue donc cette différence dans la teneur peut être à la grande variabilité au niveau du degré thermique entre les deux stades comme il a été indiqué précédemment.

En comparant l'évolution de la teneur en proline pendant les deux phases (Annexe 3) on remarque que l'intervalle d'augmentation fluctue entre 2,5 fois chez le blé dur à 11 fois plus chez l'orge ce qui concorde avec les résultats de Chaib *et al.* (2015) qui a constaté que les plantes sujettes à la sécheresse accumulent 10 fois plus de proline que celles irriguées en phase montaison, et avec ceux motionnés chez Merabta (2011) au niveau de la même phase de développement de ces plantes (15,44 fois plus chez le stressé Saïda183 par rapport à son témoin). Ce qui ne s'accorde pas parfaitement avec les travaux de Monneveux & this (1997) : Suivant l'évolution des teneurs foliaires en proline au cours du cycle végétatif, la dynamique d'accumulation était indépendante du stade de développement et, au contraire, très étroitement liée à la pluviométrie car les résultats obtenus en phase épiaison présentent (1,5-3) voir le double moyennement de ceux en montaison (Figure 35).



**Figure 35.** Graphique comparatif d'interaction Anova entre les facteurs (Traitement - Stade) pour la proline.



Pour récapituler, cette partie de notre étude a montré que l'accumulation de la proline augmente proportionnellement dans les feuilles des génotypes avec la diminution du contenu hydrique dans le sol, et atteint les valeurs les plus importantes au niveau de ce traitement hydrique, puis une fois le ré-arrosage introduit après 24 h cette dernière (l'accumulation) marque une nette diminution généralement mais pas forcément au niveau de toutes les variétés qui dure jusqu'à l'obtention de valeurs semblables à celles obtenues pour le contenu naturel initial ( des plantes témoins non exposées à un déficit) .

Tel que noté nos résultats après 7 jours, subséquemment les teneurs varient d'un génotype à l'autre, ce qui est le cas chez plusieurs auteurs aussi : (Handa *et al.* , 1986 ; Rhodes *et al.*, 1986 ;Benlaribi & Monneveux,1988 ; Chaib *et al.* ,2008) ce fait est dû au processus d'oxydation de la proline qui s'active de nouveau après la réhydratation. En condition de déficit hydrique, l'expression de ProDH est inhibée. Lors de la réhydratation de la plante ou après un traitement par la proline, le catabolisme de cet acide aminé et en particulier l'expression de ProDH sont induits (Servet *et al.* , 2012).

Il est connu que la proline s'accumule parce que le stress hydrique stimule sa synthèse, diminue le taux de sa dégradation et son incorporation dans les protéines .De là, il a été montré que sa reconversion en glutamate par oxydation se fait rapidement dans la mitochondrie sitôt les conditions redevenues favorables (Valimunzigha, 2006). Dans notre investigation, vu la réduction spectaculaire du taux de proline constatée au septième jour 7<sup>ème</sup> jour de la réhydratation des plantes stressés au cours de l'essai, il ya lieu de croire à une dégradation de celle- ci.

## **1.2. Variation du taux de chlorophylle aux cours de ces deux phases**

La photosynthèse ou assimilation chlorophyllienne est le processus physiologique grâce auquel les plantes autotrophes sont capables d'utiliser l'énergie solaire pour assurer leur nutrition exclusivement à l'aide d'éléments minéraux.

La détermination de ce phénomène est réalisé grâce à la chlorophylle qui est répartie en chlorophylle a et chlorophylle b ainsi que leur somme a + b, ces composants biologiques sont établie dans notre étude.

Selon la bibliographie la chlorophylle totale (a+b) est un bon indicateur du seuil de tolérance au stress hydrique, pour cela cette étude a été menée essentiellement sur ce facteur.

➤ **Phase montaison**

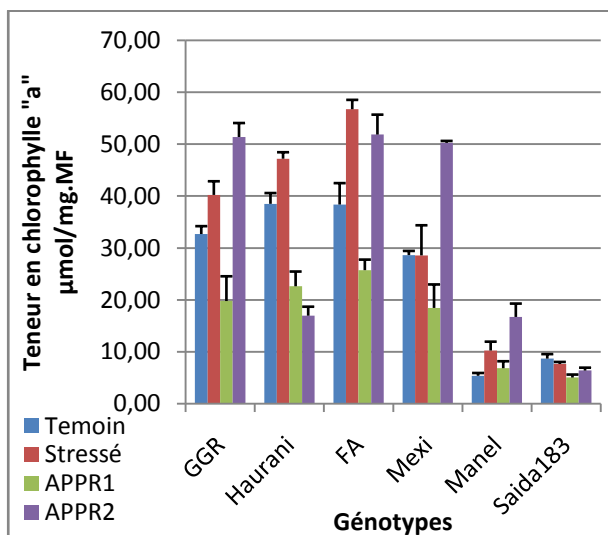
Les taux de chlorophylle (a, b et totale) dégagés de l'essai au stade montaison et pour les trois espèces sont regroupés dans le tableau XI et sont également synthétisés dans les différents histogrammes 36<sub>1</sub>, 36<sub>2</sub>, 36<sub>3</sub> rassemblés dans la figure 36.

Le taux de chlorophylle totale a été à la base important chez les plantes SDH (irriguées normalement) chez les deux blés (dur et tendre) par rapport à celui des deux orges. Le génotype Haurani de blé dur marquait la valeur maximale avec (63,53 ± 3,3) µmol/mg.MF c'est-à-dire huit (8) fois la valeur minimale notée chez l'orge Manel (8,89 ± 0,88) µmol/mg.MF.

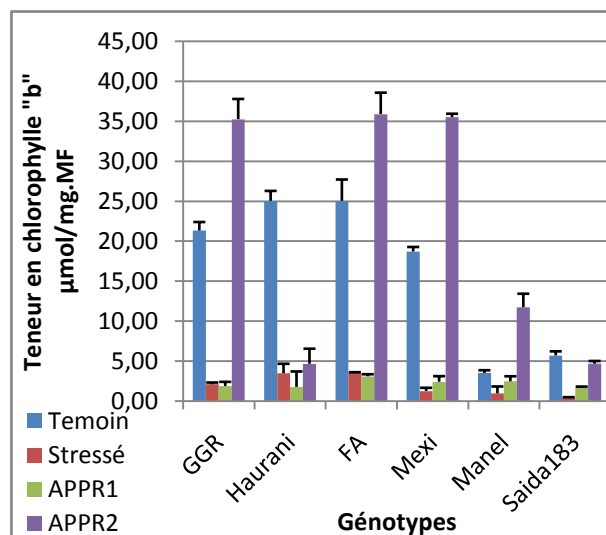
**Tableau XI.** Chlorophylle (a, b et totale) à la phase montaison.

Traitement hydrique	SDH (Témoin)			ADH (Stress)			APR1			APR2		
CHL Génotype	Chl a	Chl b	Chl Totale	Chl a	Chl b	Chl Totale	Chl a	Chl b	Chl Totale	Chl a	Chl b	Chl Totale
GGR	32,67 ± 1,52	21,32 ± 1,06	54,00 ± 2,58	40,21 ± 2,63	2,10 ± 0,21	42,32 ± 2,84	19,77 ± 4,77	1,87 ± 0,53	21,65 ± 5,30	51,37 ± 2,69	35,25 ± 2,52	86,62 ± 5,21
Haurani	38,50 ± 2,07	25,03 ± 1,24	63,53 ± 3,32	47,19 ± 1,24	3,47 ± 1,18	50,66 ± 2,43	22,61 ± 2,84	1,77 ± 1,93	24,38 ± 4,77	16,95 ± 1,74	4,66 ± 1,88	21,61 ± 3,62
FA	38,37 ± 4,12	25,04 ± 2,66	63,40 ± 6,78	56,72 ± 1,81	3,55 ± 0,05	60,26 ± 1,86	25,72 ± 2,03	3,09 ± 0,26	28,81 ± 2,29	51,84 ± 3,84	35,89 ± 2,67	87,73 ± 6,51
Mexipak	28,62 ± 0,81	18,69 ± 0,57	47,31 ± 1,38	28,56 ± 5,80	1,26 ± 0,39	29,83 ± 6,20	18,45 ± 4,52	2,41 ± 0,70	20,86 ± 5,22	50,28 ± 0,33	35,51 ± 0,41	85,79 ± 0,75
Manel	5,37 ± 0,54	3,51 ± 0,34	8,89 ± 0,88	10,24 ± 1,70	0,95 ± 0,86	11,20 ± 2,57	6,83 ± 1,34	2,46 ± 0,63	9,30 ± 1,98	16,71 ± 2,57	11,73 ± 1,69	28,45 ± 4,26
Saida183	8,68 ± 0,87	5,69 ± 0,52	14,37 ± 1,39	7,66 ± 0,38	0,41 ± 0,07	8,07 ± 0,45	5,03 ± 0,58	1,63 ± 0,17	6,67 ± 0,75	6,39 ± 0,55	4,67 ± 0,34	11,05 ± 0,89

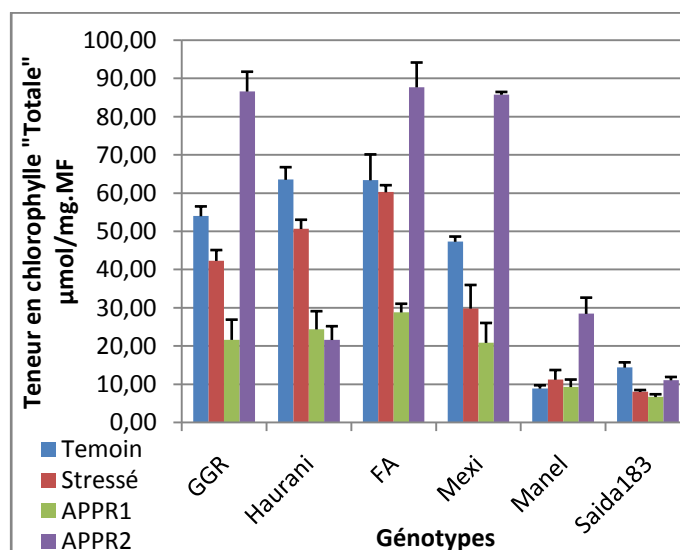
La teneur en chlorophylle totale a diminué de façon très claire après dans les plantes ADH chez les six variétés étudiées, nos résultats s'accordent avec ceux de Bousba *et al*, 2009 qui selon lui, cette chute des teneurs en chlorophylle lors d'un manque d'eau : est la conséquence de la réduction de l'ouverture des stomates visant à limiter les pertes en eau par évapotranspiration et par augmentation de la résistance à l'entrée du CO<sub>2</sub> atmosphérique nécessaire à la photosynthèse.



361. Chlorophylle a.



362. Chlorophylle b.



363. Chlorophylle totale.

**Figure 36.** Taux en Chlorophylle (a, b et totale) des six génotypes étudiés durant les différents traitements hydriques au stade montaison.

Une réduction plus importante de ce composant est notée chez les trois espèces après l'alternance de la 1<sup>ère</sup> irrigation (APR1). Le taux croît ensuite plus vite en APR2 chez les six géotypes (figure 36<sub>3</sub>) avec des moyennes très importantes qui dépassent celles enregistrées dans tous les traitements précédents [(85,79±0,75) chez Mexipak ; (87,73±6,51) µmol/mg.MF chez Haurani à titre d'exemples] sauf pour le cas de la variété Haurani de blé dur qui présente une voie de déclin continu tout le long du relais des traitements hydriques.

L'augmentation des teneurs en chlorophylle totale peu être la conséquence de la réduction de la taille des cellules foliaires sous l'effet d'un stress hydrique qui engendre une plus grande concentration selon Siakhène (1984).

L'ANOVA de deux facteurs révèle l'existence de différences très hautement significatives entre les trois tests (Annexe 4).

En ce qui concerne la chlorophylle totale le test SNK classe le facteur variété des six géotypes en 5 groupes et les traitements hydriques en trois groupes, et regroupe la corrélation entre facteur variété et facteur traitement en 11 groupes.

- **A>B>C>D>E** => Haurani~ FA > GGR > Mexi > Manel > Saida=> 56,088~ 55,172 > 51,422> 42,397 > 14,457.
- **A>B>C** => APR7jours >Témoin >Stress>APR24h => 64,420 >41,916>33,723> 12,992

Le test SNK de la chlorophylle a, b et totale en montaison classe le facteur « variété » en deux groupes distincts A et B et les traitements hydriques en trois et quatre groupes (Annexe 5), la variabilité du comportement de la chlorophylle totale de nos résultats part du même avis de plusieurs auteurs, Siakhène (1984) et Hireche (2006) ont souligné que les différentes observations de la teneur en chlorophylle totale entre les géotypes sont liées à la tolérance au stress hydrique, ils montrent dans leurs travaux sur la luzerne que la variété *Dessica* a tendance à lutter contre le stress hydrique en baissant sa teneur en chlorophylle, alors que la variété *Moapa* implique une stratégie inverse.

### ➤ Phase épiaison

Il en est de même pour la phase épiaison dont la synthèse est exprimée dans la figure 37 qui inclut les histogrammes 37<sub>1</sub>, 37<sub>2</sub> et 37<sub>3</sub> respectivement, le tableau XII englobe la totalité des valeurs obtenues.

Le taux de chlorophylle totale marque des valeurs convergentes chez les plantes témoins (SDH) et les plantes stressés (ADH) du blé dur (GGR,Haurani) et blé tendre (FA, Mexipake) où la variété Mexipake en SDH marque la valeur maximale avec  $(73,20 \pm 3,87)$  et Saida la minimale avec  $(16,68 \pm 2,12)$   $\mu\text{mol/mg.MF}$ .

Pour les plantes stressées, un léger abaissement de la chlorophylle totale est noté chez (GGR, FA, mexipak et Saida183), cette compression a été plus importante chez l'orge Manel (de  $46,91 \pm 4,99$  à  $16,71 \pm 1,38$ )  $\mu\text{mol/mg.MF}$ , par contre haurani s'est comporté autrement en augmentant cette teneur (figure 37<sub>3</sub>).

Cette baisse en épaisseur est peut être due selon Nouri (2002) à l'élévation de la température de la serre durant la période d'expérimentation. Ainsi, la synthèse de chlorophylle totale est inhibée de 70% environ chez les plantules étiolées de concombre mise à la lumière dans une chambre de culture à 42 C°, une autre interprétation de (Bousba *et al.*, 2009) confirme cette hypothèse : Pour limiter les pertes en eau par évaporation et aussi l'augmentation de la résistance à l'entrée du CO<sub>2</sub> atmosphérique nécessaire à la photosynthèse, l'économie de l'eau se traduit par une turgescence relative moins affectée par le stress conduisant à une dilution de la chlorophylle.

En APR1 on a noté une augmentation chez tous les génotypes, le blé tendre Mexipak conserve sa position avec le plus grand taux  $(82,07 \pm 2,17)$  et l'orge Saida le plus faible avec  $(17,78 \pm 1,79)$   $\mu\text{mol/mg.MF}$  avec une diminution en (APR2) mais avec préservation (maintien) de la position (pour Mexipak et Saida).

Les résultats obtenus confirment les travaux de plusieurs auteurs : La tolérance remarquable de l'appareil photosynthétique à la déshydratation (suggère que cette survie des plantes en manque d'eau est partie due à l'entretien de la capacité photosynthétique des feuilles), permettant le rétablissement rapide des plantes suite à une période de déficit hydrique (Bouras, 2001). Ce retour au même teneur est expliqué par Hireche, (2006): les plantes situées dans des zones chaudes ont une sensibilité aux variations de la température beaucoup plus forte que celles situées dans des régions où le climat est plus frais.

**Tableau XII.** Chlorophylle (a, b et totale) à la phase épiaison.

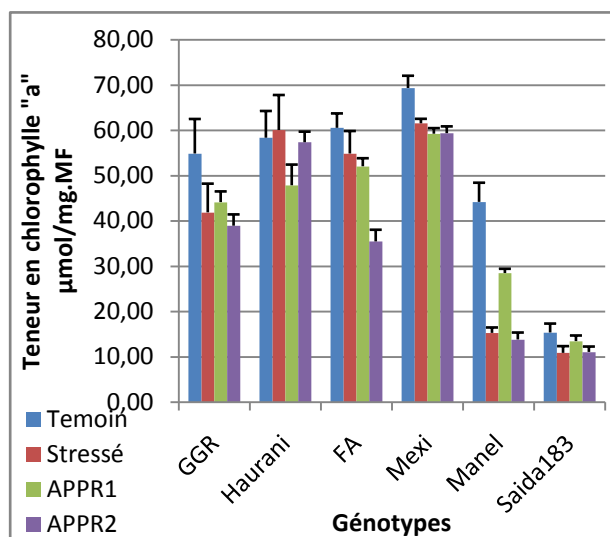
Traitement hydrique	SDH (Témoin)			ADH (Stress)			APR1			APR2		
CHL Géotype	Chl a	Chl b	Chl Totale	Chl a	Chl b	Chl Totale	Chl a	Chl b	Chl Totale	Chl a	Chl b	Chl Totale
GGR	54,86 ± 7,62	3,31 ± 0,25	58,17 ± 7,88	41,87 ± 6,34	4,88 ± 0,78	46,75 ± 7,12	44,13 ± 2,36	16,10 ± 1,65	60,24 ± 4,01	38,93 ± 2,49	5,23 ± 0,32	44,15 ± 2,81
Haurani	58,35 ± 5,90	4,43 ± 0,47	62,78 ± 6,37	60,04 ± 7,74	7,25 ± 0,57	67,29 ± 8,31	47,85 ± 4,57	19,08 ± 3,28	66,93 ± 7,84	57,36 ± 2,33	5,68 ± 0,67	63,04 ± 3,00
FA	60,53 ± 3,18	4,09 ± 0,54	64,62 ± 3,72	54,87 ± 4,96	5,42 ± 0,06	60,28 ± 5,02	52,04 ± 1,78	22,20 ± 0,94	74,24 ± 2,72	35,46 ± 2,57	3,92 ± 0,20	39,38 ± 2,77
Mexipak	69,33 ± 2,70	3,87 ± 1,16	73,20 ± 3,87	61,53 ± 0,99	5,79 ± 0,38	67,32 ± 1,36	59,23 ± 1,23	22,84 ± 0,94	82,07 ± 2,17	59,36 ± 1,50	6,49 ± 0,34	65,84 ± 1,84
Manel	44,19 ± 4,23	2,72 ± 0,75	46,91 ± 4,99	15,26 ± 1,20	1,44 ± 0,18	16,71 ± 1,38	28,47 ± 0,95	4,48 ± 0,22	32,94 ± 1,17	13,81 ± 1,53	1,66 ± 0,48	15,47 ± 2,02
Saida183	15,35 ± 1,97	1,33 ± 0,15	16,68 ± 2,12	10,85 ± 1,48	1,26 ± 0,25	12,11 ± 1,73	13,45 ± 1,24	4,33 ± 0,55	17,78 ± 1,79	11,06 ± 1,19	1,20 ± 0,16	12,26 ± 1,35

L'ANOVA de deux facteurs révèle l'existence de différences très hautement significatives entre les trois tests (Annexe 6).

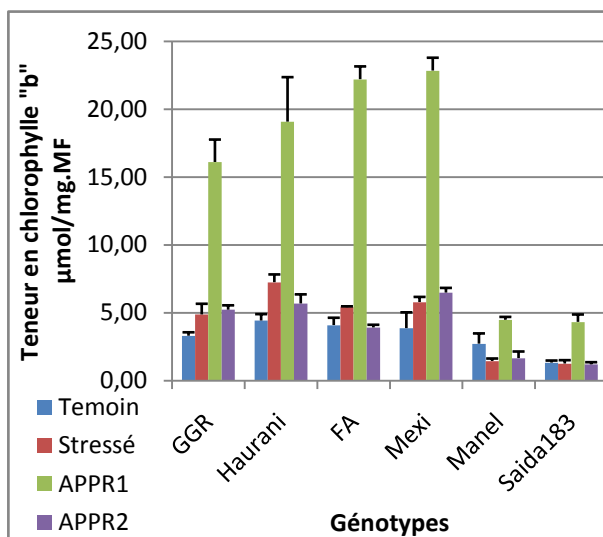
Pour la chlorophylle totale en épiaison, le SNK a permis de classer les variétés en cinq groupes et les traitements en trois :

- **A>B>C>D>E=>Mexi~FA>Haurani>GGR>Manel>Saida=>74,021~71,811>62,894>58,372>35,780**
- **A>B>C =>APR7jours>APR24h~Témoin>Stress=>59,498>55,701~53,726>45,077**

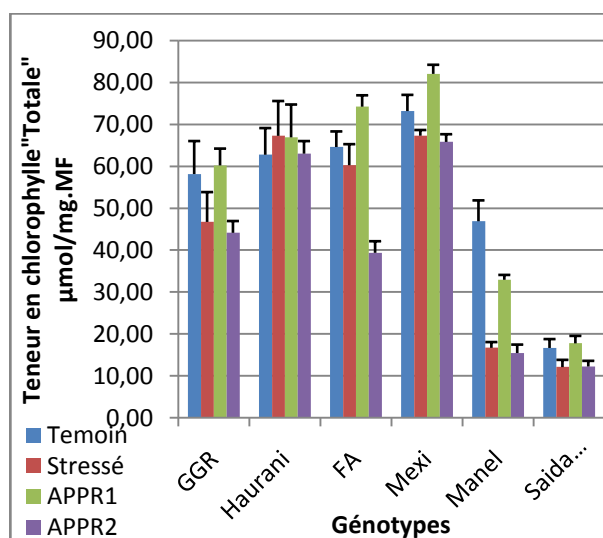
On remarque un rapprochement en taux durant les trois tests (APR1~Témoin>Stress) chez les deux blés, et a permis de regrouper l'interaction en 17 groupements.



37.1. Chlorophylle a.



37.2. Chlorophyll b.



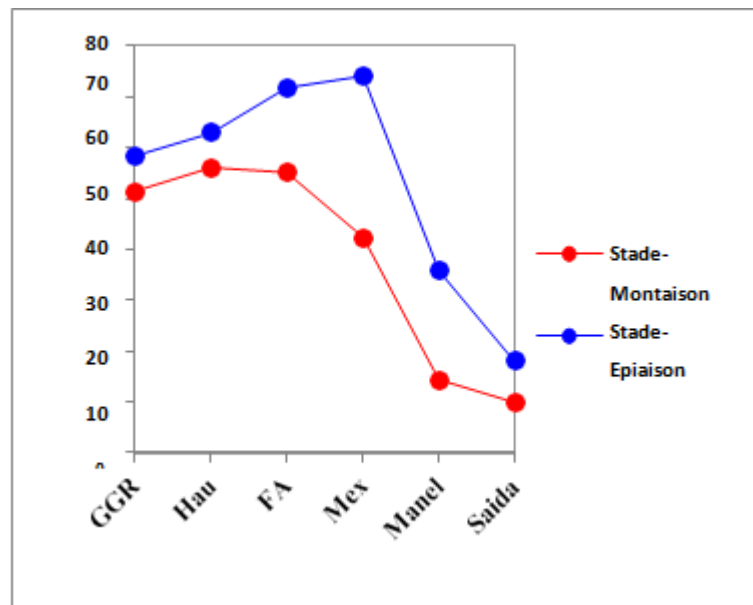
37.3. Chlorophylle totale.

**Figure 37.** Taux en Chlorophylle (a, b et totale) des six génotypes étudiés durant les différents traitements hydriques au stade épiaison.

Le test Newman Keuls de la chlorophylle a, b et totale en épiaison classe le facteur variété de chaque genre en deux groupes différents, et regroupe le facteur traitement hydrique en 1 à 3 groupes pour une meilleure comparaison entre les tests hydrique des phases critiques du développement des plantes (Annexe 7).

Selon la cinétique de l'évolution de la teneur en chlorophylle totale durant le trajet de l'expérience (Figure 38) on note que cette teneur diffère d'un stade de vie à un autre soit chez les plantes irriguées ou les plantes stressées, et maintient un comportement nouveau différent selon le test hydrique appliqué et le génotype en question.

Les résultats obtenus montrent que la moyenne totale en chlorophylle dans le stade épiaison représente presque le double de celle marquée dans la phase de montaison,  $A > B \Rightarrow$  épiaison > montaison  $\Rightarrow 53,50 > 35,26$ .



**Figure 38.** Graphique comparatif d'interaction Anova du taux de chlorophylle totale entre les facteurs (Traitement - Stade).

Cela peut être expliqué par diverses hypothèses : en montaison les feuilles fonctionnelles commencent à s'allonger et l'entrée réelle en croissance nécessite l'alimentation en azote (Clément, 1981 ; Soltner, 1990), La lumière affecte le système racinaire qui ne se développe pas normalement. Mais, il revêt une importance fondamentale pour les origines aériennes. La diminution de la durée d'éclairement réduit la hauteur de la plante. Alors qu'une insuffisance d'éclairement retarde la floraison. L'intensité lumineuse agit directement sur l'intensité de la photosynthèse, la résistance des tiges à la verse et le rendement.

Une certaine durée du jour (photopériodisme) est nécessaire pour la réalisation du stade fin tallage et début du stade montaison. Quand à l'intensité lumineuse et à l'aération agissent directement sur l'intensité de la photosynthèse, dont dépend à la fois la résistance aux facteurs environnementaux (Soltner, 1980), La quantité de la chlorophylle des feuilles peut être influencée par beaucoup de facteurs tels que l'âge des feuilles, la position des feuilles, et les



facteurs environnementaux tels que la lumière, la température et la disponibilité en eau (Hikosaka *et al.*, 2006).

La comparaison des moyennes du TCT et l'analyse de variance, montrent qu'il existe une différence très hautement significative entre les tests, les variétés et les phases (Annexe 8). Et classent les traitements hydriques que les six génotypes ont subis pendant les deux phases de développement en 4 groupes :

- **A>B>C>D=>(APR7jours)>(SDH)>(ADH)>(APR24h)=>61,959>47,821>39,400>34,346**

Le test de NEWMAN-KEULS au seuil 5% pour le facteur génotype donne cinq 5 groupes homogènes :

- **A>B>C>D>E=>FA>Haurani~Mexi>GGR>Manel>Saida=>63,491>59,491~58,209>54,897>25,118>14,083.**

Le 1<sup>er</sup> groupe A porte sur le génotype FA qui contient la valeur la plus élevée, le B englobe les variétés Haurani et Mexipake qui maintiennent presque les mêmes importantes analogues, le 3<sup>ème</sup> groupe C renferme le blé dur GGR qui occupe la position centrée avec un taux en chlorophylle totale moyen (54,897  $\mu\text{mol/mg.MF}$ ) par rapport aux autres génotypes, les deux derniers groupes D et E correspondent aux deux génotypes d'orge Manel et Saida qui ont marqué les plus basses teneurs successivement, la quantité de chlorophylle totale fournit par *Triticum* est toujours plus importante que celle notée chez *Hordeum*, ces résultats sont similaires à ceux de (Bousba *et al.*, 2009).

### 1.3. Évolution concomitante de ces deux paramètres

Nos résultats s'accordent avec les résultats de Tahri (1997) qui montre une relation inverse entre les teneurs en proline accumulées et les teneurs en pigments chlorophylliens perdues par chacune des trois variétés (Annexe 9). La variété qui accumule plus de proline est aussi celle qui connaît la plus forte diminution de ses teneurs en pigments chlorophylliens et vice versa. En effet ces résultats suggèrent l'existence d'une connexion vraisemblable entre les voies de biosynthèse des pigments chlorophylliens et de la proline. Une compétition entre ces deux composés sur leur précurseur commun, le glutamate, peut être à l'origine de cette évolution d'après Bengston *et al* (1978) et Reddy & Veeranjanyulu (1991).

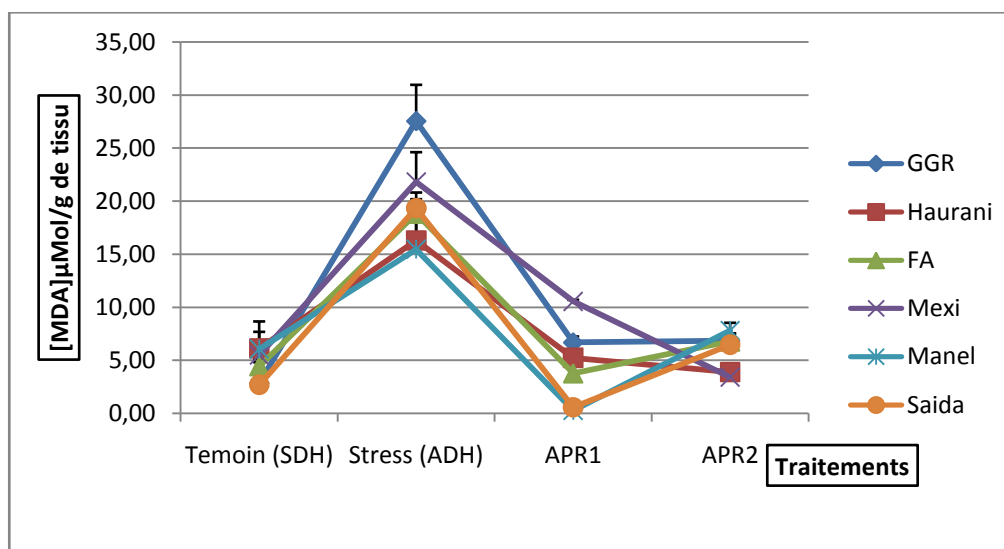
Ceci s'accorde aussi avec les hypothèses d'autres auteurs : Bezzalla (2005) rapporte que l'accumulation de la proline résulte de la perturbation du métabolisme des protéines causée par une protéolyse membranaire, Il semble que la stimulation de la synthèse de la proline soit

parallèle à une activation globale d'une voie métabolique partant du glutamate semi-aldéhyde et conduisant à la proline (Levigneron *et al.*, 2005). Un signal enzymatique au niveau du chloroplaste qui déclencherait la biosynthèse de la chlorophylle, stimulerait également celle de la proline dans cet organite (Nana *et al.*, 2009).

## 2. Effet du stress hydrique oxydatif sur la peroxydation lipidique (MDA)

La peroxydation lipidique est le symptôme le plus attribué aux dommages oxydatifs et est souvent employée comme indicateur de stress oxydatif (Zhang et Kirkham, 1994), elle a été évaluée par la mesure de la concentration du Malonedialdéhyde (MDA) : un produit final de peroxydation des lipides au niveau des échantillons étudiés durant les quatre traitements hydriques.

Nos résultats indiquent que Le traitement ADH affecte de manière significative la production du MDA indiquant la peroxydation des lipides (Figure 39). La MDA s'accumule dans les feuilles dès le début de l'application de la contrainte hydrique de manière progressive. Au-delà, les feuilles de tous les génotypes sous ADH sans exceptions continuent à accumuler des quantités importantes du MDA.

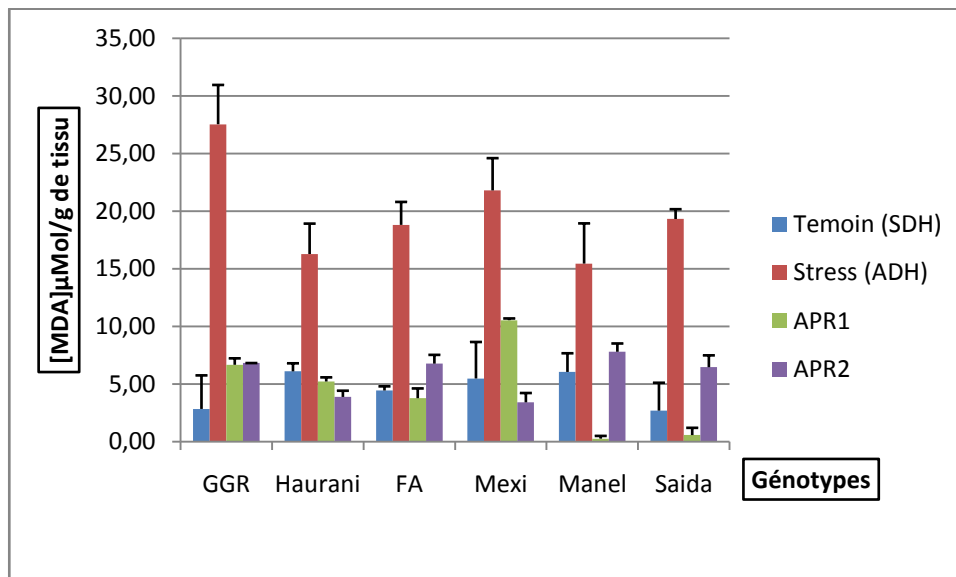


**Figure 39.** Variation du niveau de MDA.

Quant aux feuilles soumises au traitement APR1 et plus tard APR2, elles présentent une accumulation moindre. Vers la fin de l'expérience, les productions du MDA sous APR1 et APR2 excèdent les plantes témoins SDH par environ 0.04% et 0.02% respectivement pour la majorité des variétés excepté les deux Orges Manel et Saida qui marquent une nette diminution après 24 h de la ré irrigation avec  $(0.26 \pm 0.24) - (0.57 \pm 0.63)$   $\mu\text{Mol/g}$  de tissu seulement.

Le taux de MDA, reste faible et stable chez les plantes témoins (SDH) des six variétés durant toute la durée des expérimentations (Figure 40) et varie de  $(2,69 \pm 2,42)$  chez Saida à  $(6,10 \pm 0,70)$   $\mu\text{Mol/g}$  de tissu chez Haurani.

En conditions de stress hydrique induit par arrêt d'arrosage, l'accumulation de la MDA est graduelle et régulière chez la totalité des génotypes. Cependant, cette augmentation est plus importante chez la variété GGR où elle atteint  $(27,54 \pm 2,91)$   $\mu\text{Mol/g}$  de tissu le jour du test et marque la valeur maximale, le niveau élevé du MDA chez les deux variétés GGR et Mexipak indique un degré élevé de stress oxydatif et des dommages cellulaires dans ces plantes, Le dosage de la MDA est un moyen efficace pour évaluer les dommages du stress oxydatif sur la membrane (Katsuhara *et al.* 2005).



**Figure 40.** Évolution des teneurs en MDA des six génotypes étudiés durant les quatre traitements hydrique au stade Épiaison.

Cette augmentation chez le lot ADH est de l'ordre de 9,70 fois (marqué chez GGR) à 2,55 fois plus (noté chez Manel) en comparant avec les valeurs initiales du lot SDH. Une telle réponse est rapportée sous l'effet du déficit hydrique chez la luzerne (Irigoyen *et al.* 1992), le blé (Zhang & Kirkham 1994) et quelques graminées (Jiang & Huang 2001), comparativement à la littérature les stress environnementales provoquent une accumulation de MDA qui permet de montré une accumulation de MDA soit racinaire pour certains auteurs (Dixit *et al.*, 2001; Mishra *et al.*, 2006) soit foliaire (Yannarelli *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2007).

L'analyse de la variance ANOVA entre deux facteurs des résultats obtenus, révèle l'existence de différences « hautement significatives » entre les génotypes et de différences « très hautement significatives » entre les traitements hydrique et l'interaction entre facteurs (Annexe 10). Les résultats sont en accord avec ceux rapportés par Toumi *et al.*, (2014) qui ont constaté que lors d'un stress hydrique sévère une accumulation significative de MDA est observée chez la variété *jura de colza* (*Brassica napus* L) où elle atteint  $6,61 \pm 0,2$  mg.g<sup>-1</sup> au 18ième jour d'arrêt d'arrosage, Daud *et al* (2015) aussi indiquent que le niveau de MDA augmente chez le colza stressé.

Le test SNK a permis de classer le facteur génotype en trois groupes, le groupe A contient les deux variétés GGR et Mexipak avec les moyennes (11,03 et 10,30)  $\mu\text{mol/g}$  de tissu, le groupe B se singularise par le génotype FA 8,44  $\mu\text{mol/g}$  et le dernier contient les variétés Haurani, Manel et Saida qui ont comme moyennes (7,87-7,39 et 7, 26)  $\mu\text{mol/g}$  respectivement.

- **A>B >C** => GGR ~ Mexipak > FA > Haurani ~ Manel ~ Saida => 11,03 ~ 10,30 > 8,44 > 7,87~7,39~ 7,26

La synthèse des comparaisons multiples par paires a classé le facteur traitement en deux groupes : A : stress(ADH) ; B : (APR2), témoin (SDH) et (APR1).

- **A>B** = > Stress(ADH) > (APR2) ~Témoin(SDH) ~ (APR1) = > 19,86 > 5,85 ~ 4,64 ~4,50.

L'étude de corrélation entre les deux facteurs (variété et traitement hydrique) révèle l'existence de six groupes et 9 groupements.

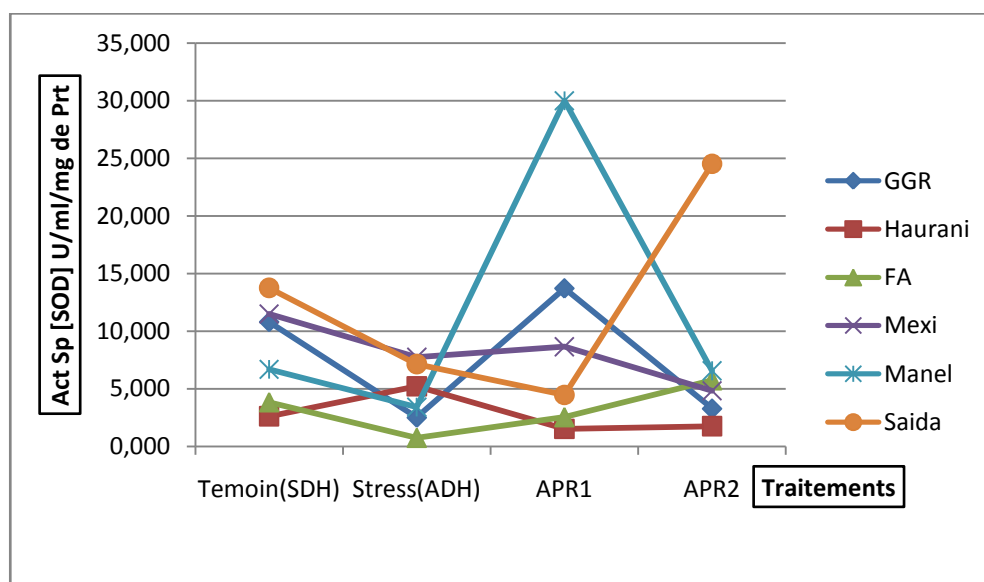
### 3. Résultats des activités antioxydantes

En raison de la différence entre la période végétative et la période reproductive chez la plante (Soltner, 1990) où on assiste à des différenciations plus rapide et complexes et des transformations totales (Boufenar- Zaghouane & Zaghouane, 2006) une expérimentation biochimique plus précise s'est imposée en phase épiaison.

L'effet du stress oxydatif induit par un déficit hydrique est évalué en épiaison (phase critique) par la mesure de l'activité des enzymes antioxydantes suivantes : SOD, CAT, POD et APX.

#### 3.1. Évolution de l'activité enzymatique superoxyde dismutase (SOD)

Dans ce travail l'activité de la SOD se comporte différemment selon le traitement hydrique appliqué, les résultats de l'activité spécifique mesurée chez les deux genres de céréales étudiés sont représentés dans les figures (41 et 42).

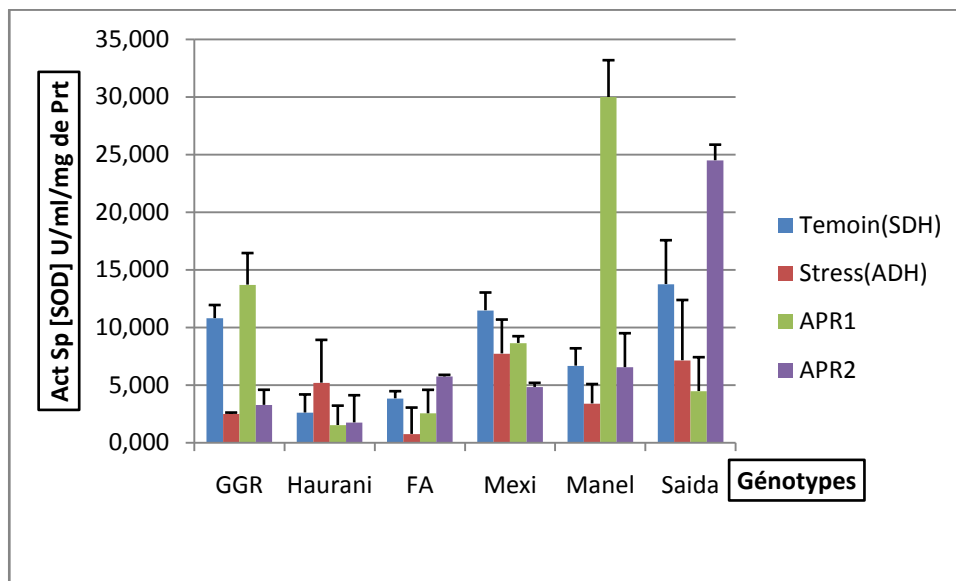


**Figure 41.** Variation de l'activité spécifique de la superoxyde dismutase (SOD).

Avant l'application du stress hydrique on constate que l'activité de cette enzyme est d'avantage notée dans l'ensemble des échantillons témoins surtout chez les trois variétés Saida, Mexipak et GGR avec les activités (13,75 ± 3,80), (11,48 ± 1,53) (10,79 ± 1,14) U/ml/mg de protéines respectivement.

Suite à l'application du traitement hydrique ADH (déficit), l'activité chute pareillement chez tous les génotypes pour atteindre des valeurs plus inférieures que celles obtenues pour les plantes témoins et fluctue entre (0,75 ± 2,28) chez FA et (7,73 ± 2,93) U/ml/mg de protéines

chez Mexipak, cependant une légère augmentation de l'ordre de deux fois plus le témoin est notée seulement chez le blé dur Haurani.



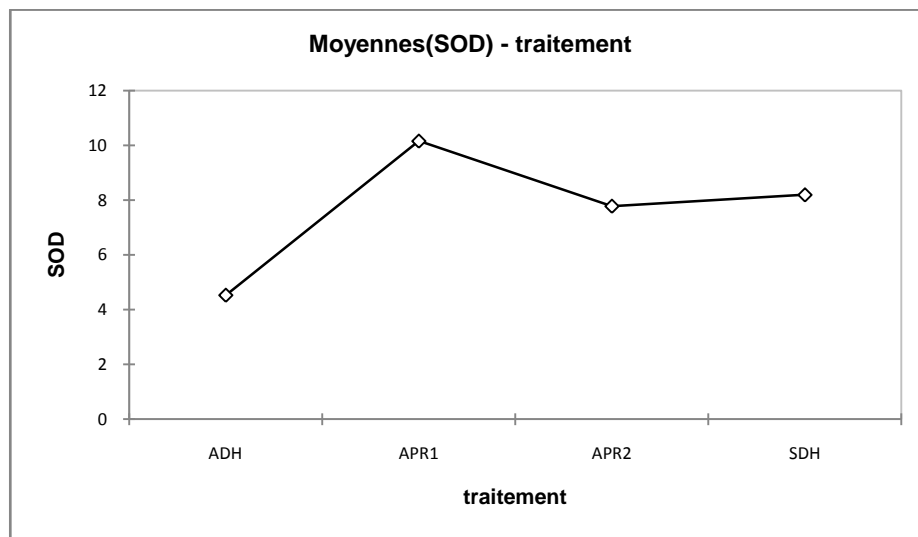
**Figure 42.** Évolution de l'activité spécifique de la SOD des six génotypes étudiés durant les quatre traitements hydrique au stade Épiaison.

Une large variabilité est ensuite enregistrée sous les deux traitements APR1 et APR2, l'observation globale des résultats dégage deux tendances distinctes de génotypes (Figure 42) :

- Après 24 h de ré arrosage une nette augmentation de l'activité SOD est marquée en faveur de la variété Manel qui dépasse 9 fois sa valeur enregistrée sous déficit (en ADH) avec  $(29,98 \pm 3,19)$  U/ml/mg de protéines, le même comportement est noté aussi chez GGR (6 fois supérieure) arrive ensuite la variété FA suivie par Mexipak, par contre les deux variétés Haurani et Saida ont subit une légère chute de cette activité avec 0,29 et 0,63 fois moins les valeurs enregistrées en ADH. L'activité accrue de la SOD en APR1 (Figure 43) peut refléter selon la vision de plusieurs auteurs (Stimulez & Hess, 1982 ; Powers *et al*, 1999; Jiang & Huang, 2001 ; Huseynova *et al*, 2015 ) à la quantité augmentée de production d' $O_2^-$ , comme elle indique le rôle possible des effets de la SOD qui catalyse la dismutation des ions superoxydes ( $O_2^{\bullet-}$ ) en peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et oxygène ( $O_2$ ) et la protection de l'appareil photosynthétique.

- En APR2 la variété Saida subit une augmentation remarquable par rapport aux précédents traitements et atteint l'activité  $(24,49 \pm 1,35)$  U/ml/mg de protéines, l'activité de cette enzyme est stimulée aussi chez les deux génotypes FA et Haurani vu les valeurs enregistrées lors du APR1, alors que les trois variétés restantes maintiennent des activités avec

des valeurs relativement basses en diminuant l'activité vers la fin de l'expérience et prennent des valeurs comparables aux témoins.



**Figure 43.** Courbe des moyennes du facteur traitement (SNK) relevé de l'étude de la SOD.

Au cours de cette durée, des différences très hautement significatives ( $P < 0,001$ ) entre les traitements SDH, ADH, APR1 et APR2, entre les six variétés et les interactions entre facteurs sont mises en évidence (Annexe 11). La synthèse des comparaisons multiples par paires a classé le facteur traitement en trois groupes : A : APR1, B : témoin (SDH) + (APR2) et C : stressé (ADH).

- $A > B > C = > (APR1) > \text{Témoin}(SDH) \sim (APR2) > (ADH) = > 10,15 > 8,19 \sim 7,77 > 4,52$ .

L'analyse de l'activité de la SOD laisse suggérer que l'accumulation de ROS intracellulaires en situation de stress environnementaux conduit à l'activation de mécanismes de défense, soit par augmentation ou par diminution d'activités enzymatiques antioxydantes, notamment la SOD qui est reconnue comme la première ligne de défense contre les ROS.

Les ROS accumulés, particulièrement les  $H_2O_2$  semblent avoir une action de signal qui alerte la cellule au cours d'un stress oxydatif, la diminution d'activité de la SOD sous le traitement ADH peut être la conséquence d'une sensibilité de l'enzyme à l'excès en  $H_2O_2$  produit dans la cellule, Une réponse semblable sous des conditions de déficit hydrique est rapportée sur des plantes de blé (Zhang & Kirkham, 1994), sur des plantes de pois (Iturbe-Ormaetxe et *al.*, 1998) et sur des cultures de cellules de tabac (Bueno et *al.*, 1998). La réduction de l'activité SOD sous la sécheresse pourrait être attribuée à la synthèse réduite ou à la dégradation augmentée de l'enzyme. D'ailleurs, l'accumulation de  $H_2O_2$  sous la sécheresse

du point de vue de Zhang & Kirkham (1994) et Huseynova *et al.* (2014) pourrait également abaisser et minimiser l'activité SOD.

La corrélation entre les deux facteurs (variété et traitement hydrique) révèle l'existence de sept groupes et 10 groupements.

### 3.2. Évolution de l'activité enzymatique catalase (CAT)

D'après Kim *et al* (2005) Chez les céréales, la catalase est considérée comme un marqueur central dans la protection contre le stress oxydatif, principalement dans des conditions de stress abiotique. Les résultats de l'activité spécifique de la CAT montrent une différence entre les génotypes et entre les traitements hydriques appliqués : les valeurs exprimées au début de l'analyse (lot SDH) variaient initialement entre ( $4,49 \pm 0,52$  et  $7,68 \pm 4,98$ ) U/min/mg de Prt.

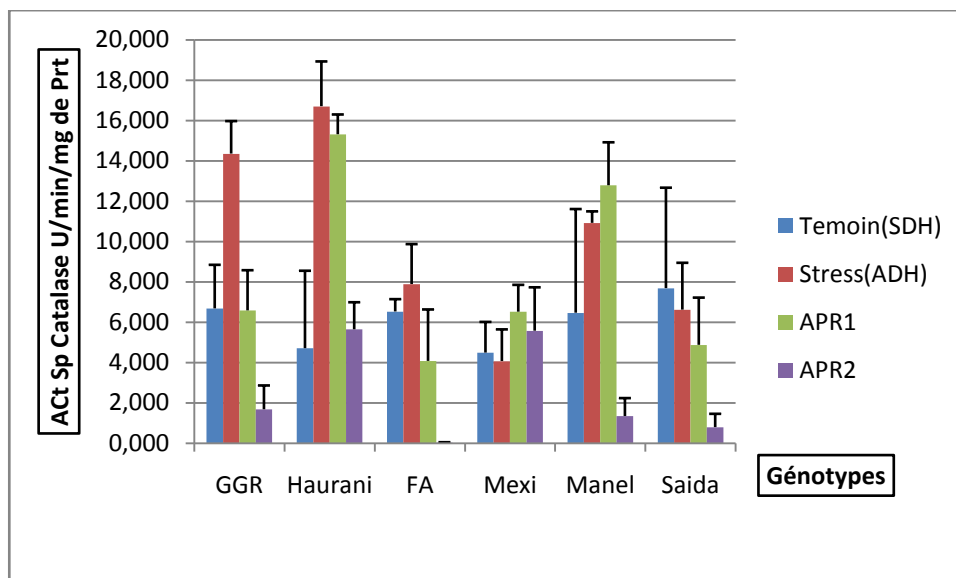
Ceci a été déjà expliqué par Del Rio *et al* (2006) : La présence d'une activité catalase dans les feuilles peut s'expliquer par la présence de l'enzyme dans le peroxyosome pour éliminer le peroxyde d'hydrogène qui se forme lors du cycle photoréspiratoire suite à l'action de la glycolate oxydase

Les écarts de l'activité CAT n'ont commencé à se manifester que lors de l'application de la contrainte (Figure 44), la CAT subit des augmentations plus ou moins importantes en fonction des génotypes chez les quatre variétés : Haurani, GGR, Manel et FA respectivement, elle est significativement plus élevée chez Haurani avec ( $16,70 \pm 2,22$ ) U/min/mg de Prt et dépasse 3 fois plus sa valeur témoin.

Diverses réponses des activités de CAT au déficit hydrique sont rapportées. Certaines études ont observé que le stress hydrique engendre des activités élevées de la catalase (Bueno *et al.*, 1998 ; Luna *et al.*, 2004). Ainsi nos résultats confirment les travaux de Kim *et al* en 2005 et de Khosravinejad *et al* en 2008 qui ont montré que l'activité de la catalase augmente dans les feuilles des céréales pendant un stress.

Entre autre on observe une légère diminution de l'activité catalase chez Mexipak et Saida des stressés par rapport aux témoins avec ( $4,07 \pm 1,57$ ) et ( $6,62 \pm 2,32$ ) U/min/mg de Prt.





**Figure 44.** Évolution de l'activité spécifique catalase (CAT) des six génotypes étudiés durant les quatre traitements hydrique au stade Épiaison.

Puis en réponse au traitement APR1 les variétés qui ont marqué une augmentation de l'activité en ADH à savoir les trois génotypes (GGR, Haurani, FA) manifestent une activité moindre et chez Saida aussi dans laquelle l'activité continue à décroître (Figure 45), ce qui a été déjà observée chez les agrumes soumis au stress hydrique et salin par Ferreira *et al* (2004) : l'accumulation de la CAT tend à diminuer lors de la réhydratation et dépasse 150 mM. Il est à noté que la catalase exhibe un niveau plus élevé chez Mexipak et Manel en APR1.

Après l'alternance de la deuxième ré irrigation (APR2) l'activité tend vers des valeurs plus ou moins inférieures ou semblables à celles du témoin chez la majorité des génotypes avec presque absence de cette activité chez Saida183 et FA ( $0,79 \pm 0,66$ ) et ( $0,026 \pm 0,02$ ) U/min/mg de Prt respectivement.

Dans notre étude, l'activité catalase a diminué (Figure 45) avec le progrès des deux ré hydratations (APR1, APR2). Une telle réponse est rapportée chez d'autres espèces (Quartacci & Navari-Izzo, 1992; Zhang & Kirkham, 1994; Jiang & Huang, 2001). La diminution de l'activité CAT pourrait être attribuée à sa photo-inactivation selon Feierabend & Engel (1986) et Polle (1997).

Badiani *et al* (1990) et Zhang & Kirkham (1994) expliquent que l'inhibition de la synthèse de la protéine induite par le stress hydrique est en partie due à la diminution marquée de l'activité de CAT dans la lumière chez des plantes soumises à un stress hydrique.

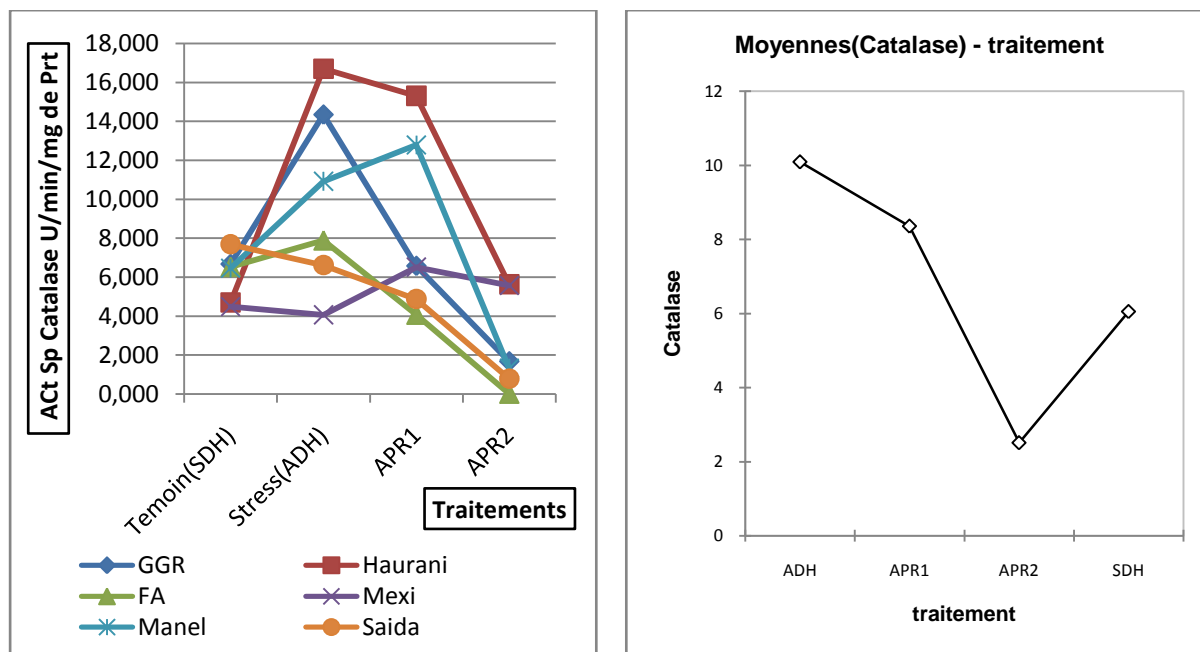


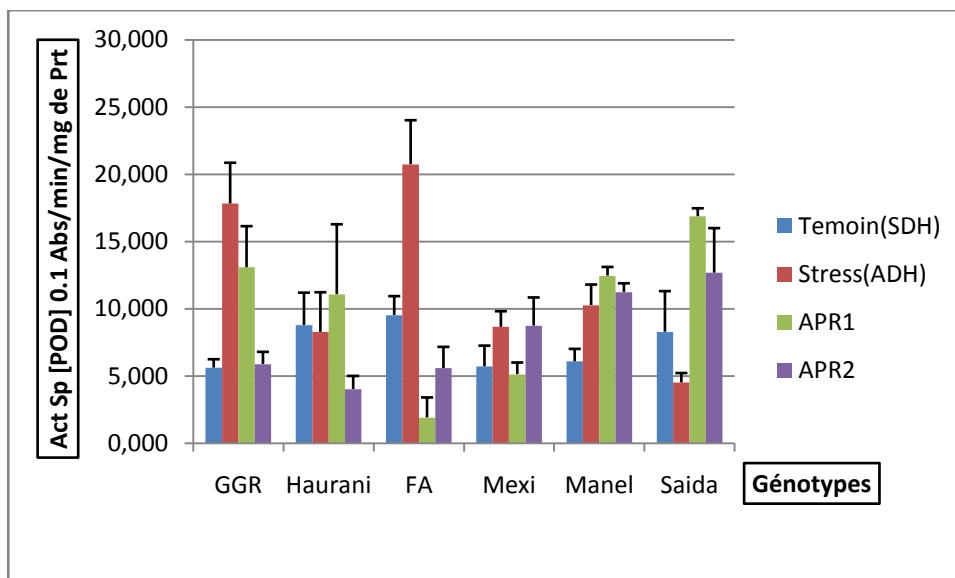
Figure 45. Variation de l'activité spécifique et les moyennes de la catalase (CAT).

L'ANOVA entre deux facteurs des résultats obtenus, révèle l'existence de différences « très hautement significatives » entre les génotypes et les traitements hydrique et interaction entre facteurs (Annexe 12). L'étude de corrélation entre les deux facteurs (variété et traitement hydrique) révèle l'existence de six groupes et neuf groupements.

### 3.3. Évolution de l'activité enzymatique peroxydase (POD)

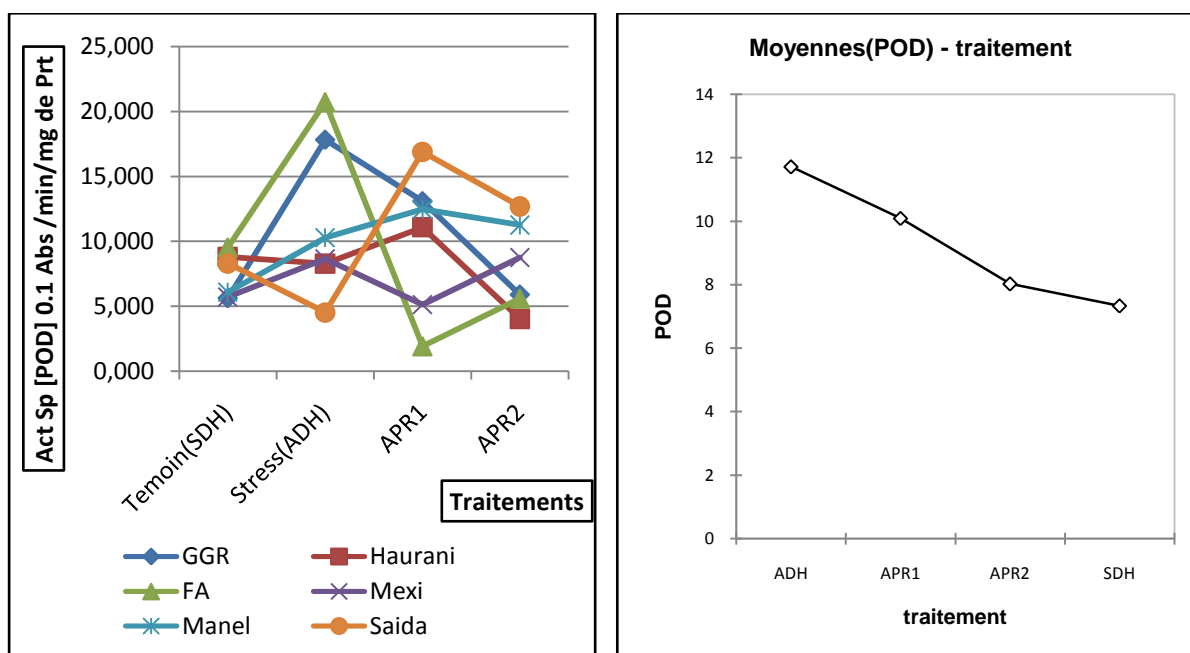
Dans une première phase et avant l'application de la contrainte, on observe que l'activité spécifique peroxydase ne montre pas de différences majeures entre les génotypes témoins et les mesures fluctuent entre  $(5,61 \pm 0,62)$  0,1Abs/min/mg de Prt notée chez GGR et  $(9,53 \pm 1,40)$  chez FA (Figure 46).

Après privation d'eau (ADH) l'activité peroxydase augmente légèrement au niveau des feuilles des quatre génotypes GGR, FA, Manel et Mexipak avec un ordre d'augmentation d'environ 1,52 à 3,17 fois plus le témoin et c'est chez la variété FA en particulier qu'on note la valeur maximale  $(20,74 \pm 3,27)$  0,1Abs/min/mg de Prt, en revanche la POD est plus faible en ADH chez Saida et Haurani qu'en SDH. La variation de l'activité des peroxydases est observée chez plusieurs espèces cultivées sous différents stress abiotiques et biotiques, ces stress provoquent en se conformant à Khales & Baaziz (2006) une augmentation des peroxydases dans les fractions solubles et ioniques préparées à partir d'écotypes tolérants.



**Figure 46.** Évolution de l'activité spécifique peroxydase (POD) des six génotypes étudiés durant les quatre traitements hydrique au stade Épiaison.

Les traitements hydriques APR1 et APR2 affectent significativement l'activité de la POD (Figure 47) : après 24 h les trois variétés Manel, Haurani et Saida accroissent graduellement leur activité de 1,21 à 3,73 fois plus leur activité ADH, tandis que la POD chute chez GGR, Mexipak et surtout chez FA où la diminution est considérablement prononcée après le PIC noté lors du traitement précédent (de 20,74 à 1,91) 0,1Abs/min/mg de Prt (on observe une activité très élevée et qui diminue presque totalement).



**Figure 47.** Variation de l'activité spécifique et les moyennes de la peroxydase (POD).

La baisse des activités de la POD pourrait être causée suivant Hou *et al* (2007) par l'incapacité de la POD à éliminer l'excès de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ou par la formation d'un complexe protéique provoquant des modifications au niveau de la structure de l'enzyme.

7 jours après : l'activité a décliné aussi bien sous APR2 que sous APR1 chez les deux blés durs et les deux orges montrant une similitude avec les témoins, mais elle augmente légèrement chez les deux blés tendres (par rapport à APR1) et présente une situation moindre chez FA d'un facteur de 0,59 fois moins que le témoin, Selon Kim *et al* (2005) l'activité de peroxydase dans les conditions d'un stress abiotique reste faible par rapport à celle de la catalase. Cette diminution Si l'on se rapporte à Asada (1994) peut être également due à la production excessive de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> qui devient un inhibiteur de la peroxydase et qui provoque donc la diminution de son activité.

Les résultats de l'ANOVA des activités POD sont représentés dans l'annexe 13, montrant une « haute signification » entre les génotypes et une « très haute signification » entre les traitements et l'interaction entre les deux facteurs.

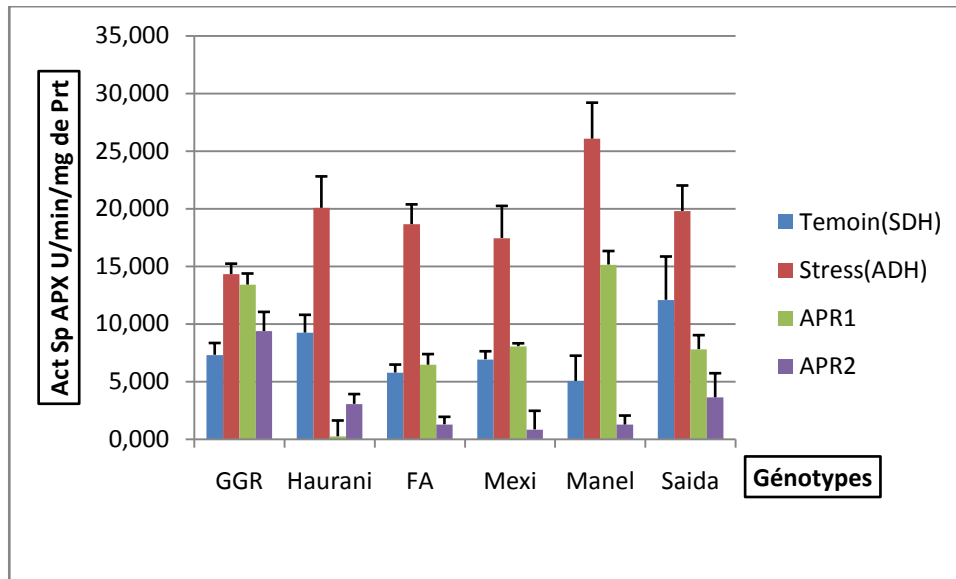
La synthèse des comparaisons multiples par paires (SNK) a classé le facteur traitement en trois groupes : A : stress(ADH), B : (APR1), C : (APR2) + témoin (SDH).

- **A>B>C** => Stress(ADH) > (APR1) > (APR2) ~ Témoin(SDH) => 11,75 > 10,90 > 8,03~7,33.

L'étude de corrélation entre les deux facteurs (variété et traitement hydrique) révèle l'existence de sept groupes et dix groupements.

### 3.4. Évolution de l'activité enzymatique ascorbate peroxydase (APX)

Dans notre étude l'activité spécifique APX présente une augmentation juste après l'application du traitement hydrique déficitaire (Figure 48) puis diminue plus loin dans le cycle après réhydratation. L'augmentation sous ADH est plus prononcée chez la variété Manel avec (26,07±3,12) U/min/mg de protéines et dépasse ainsi 5 fois plus sa valeur marquée en SDH. Cependant l'activité APX diminue continuellement depuis le début des traitements APR1 et APR2 au-dessous du niveau des témoins chez la totalité des génotypes excepté chez le blé dur GGR, la réduction est moindre sous APR2 que sous APR1.

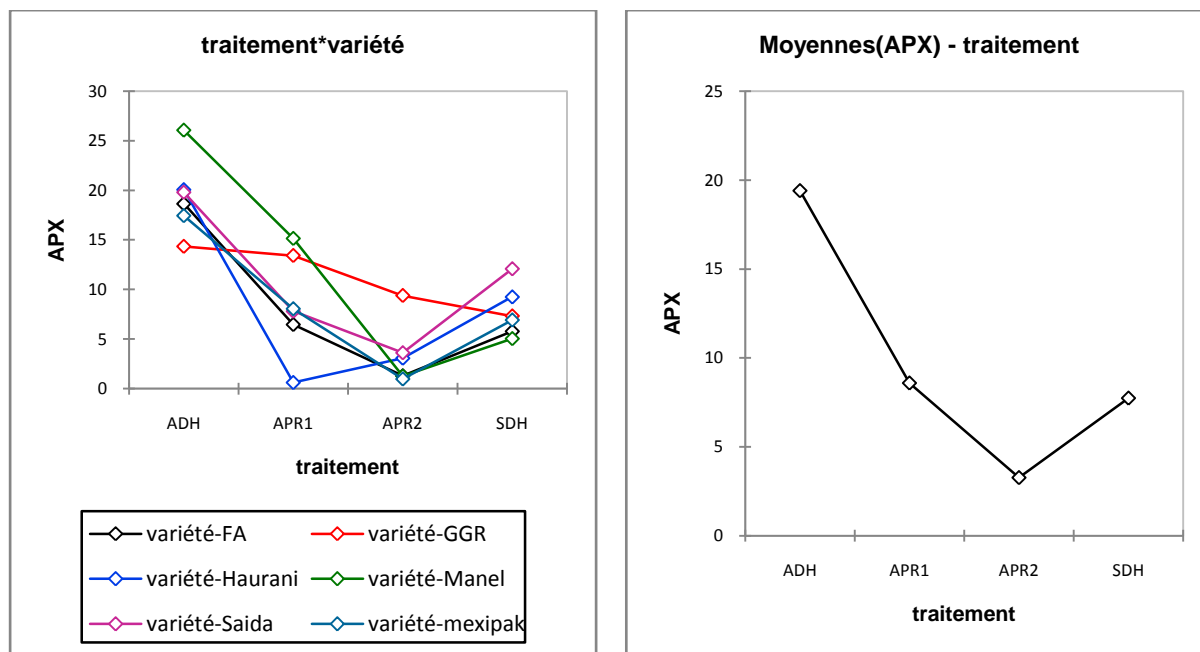


**Figure 48.** Évolution de l'activité spécifique Ascorbate peroxydase(APX) des six génotypes étudiés durant les quatre traitements hydrique au stade Épiaison.

L'activité de l'APX (enzyme particulière spécifique du règne végétal) est augmentée en réponse à plusieurs types de stress auparavant [Tanaka *et al.*, (1985) ; Gillham & Dodge, (1986) ; Smirnoff & Colombe , (1988)]. Les ascorbates peroxydases sont induites par différents stress dont la sécheresse (Inze & van Montagu, 1995). Le caractère changeant dans l'activité APX pendant 20 jours de la restriction de l'eau dans cette contribution a soutenu cet argument, La tolérance au stress dépend aussi des piègeurs des espèces actives de l'oxygène ROS (les molécules antioxydantes tels que l'ascorbate, la vitamine E et les caroténoïdes, et les enzymes de détoxification telles que la superoxyde dismutase SOD, l'ascorbate peroxydase APX...).

Il est à noter qu'en APR1 on a pu observer une réduction phénoménale de l'APX chez le blé dur Haurani (Figure 49) d'où le taux de diminution était de 98,80 % par rapport à celui examiné en ADH, une minime réactivation de l'enzyme est ensuite détectée en APR2 chez le même génotype, tandis que le reste des génotypes manifeste une nette diminution après une semaine de ré irrigation et l'ordre d'abaissement varie de 0,08 et 0,70 fois moins APR1.

L'inhibition de l'activité de l'APX après réhydratation est probablement due à l'excès des ROS qui affectent la structure de l'enzyme signalée par Luna *et al.* (1994) chez d'autres plantes. En effet, dans les feuilles d'*A-thaliana*, Drazkiewicz *et al* (2004) ont montré que les niveaux élevés de ROS induits par le stress oxydatif sont responsables d'un effet inhibiteur de l'activité de l'APX.



**Figure 49.** Variation de l'activité spécifique et les moyennes de l'ascorbate peroxydase (APX).

L'ANOVA montre clairement que la variation de l'activité spécifique de l'APX est très hautement significative entre les trois piliers de l'étude (génotypes, traitements et corrélation) (Annexe 14).

SNK répartit le facteur traitement en trois groupes et divise les génotypes en deux catégories.

- **A>B>C** => Stress(ADH) > (APR1) ~ Témoin(SDH) > (APR2) => 19,39> 8,58~ 7,73> 3,26
- **A>B** => Manel ~ GGR~ Saida > Mexipak ~ Haurani ~ FA.

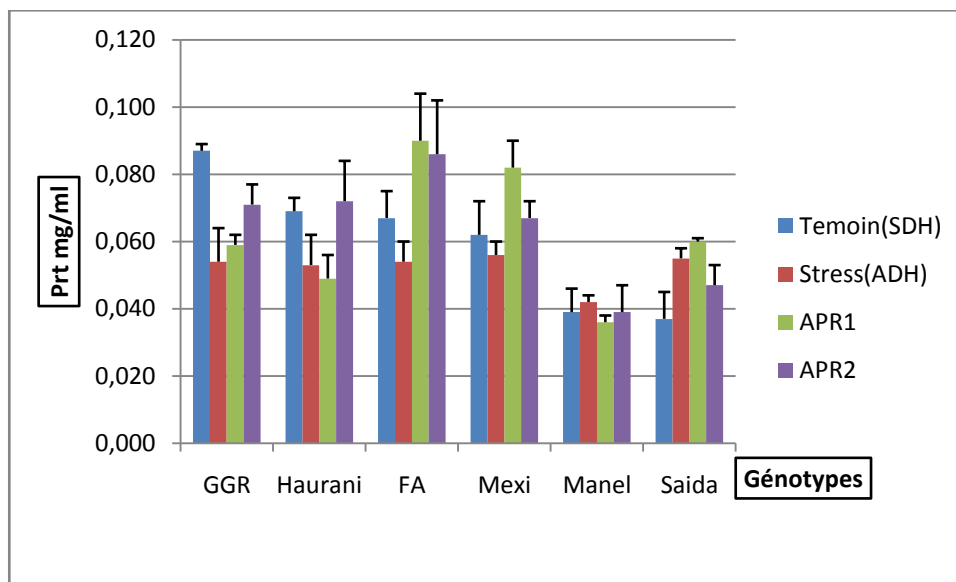
Dix groupes et quatorze groupements sont triés grâce à l'étude de corrélation entre les deux facteurs (variété et traitement hydrique).

#### 4. Effet du stress hydrique oxydatif sur la synthèse des protéines

Après l'application du traitement hydrique restrictif (ADH), les profils de la concentration protéique montrent une chute parallèle et représentent un pourcentage de diminution allant de 9,86 à 37,93 % par rapport à ceux notés en (SDH) chez les deux blés (dur et tendre) certifiant les travaux de (Lawlor & Cornic, 2002 ; Flexas *et al.*, 2004 ; Flexas *et al.*, 2009) qui montrent que les protéines cytoplasmiques et les organites peuvent subir d'importantes pertes d'activité ou être complètement dénaturés lorsqu'ils sont déshydratés. Ces résultats confirment ceux d'autres récentes études, ainsi Daud *et al* (2015) note que la concentration des protéines

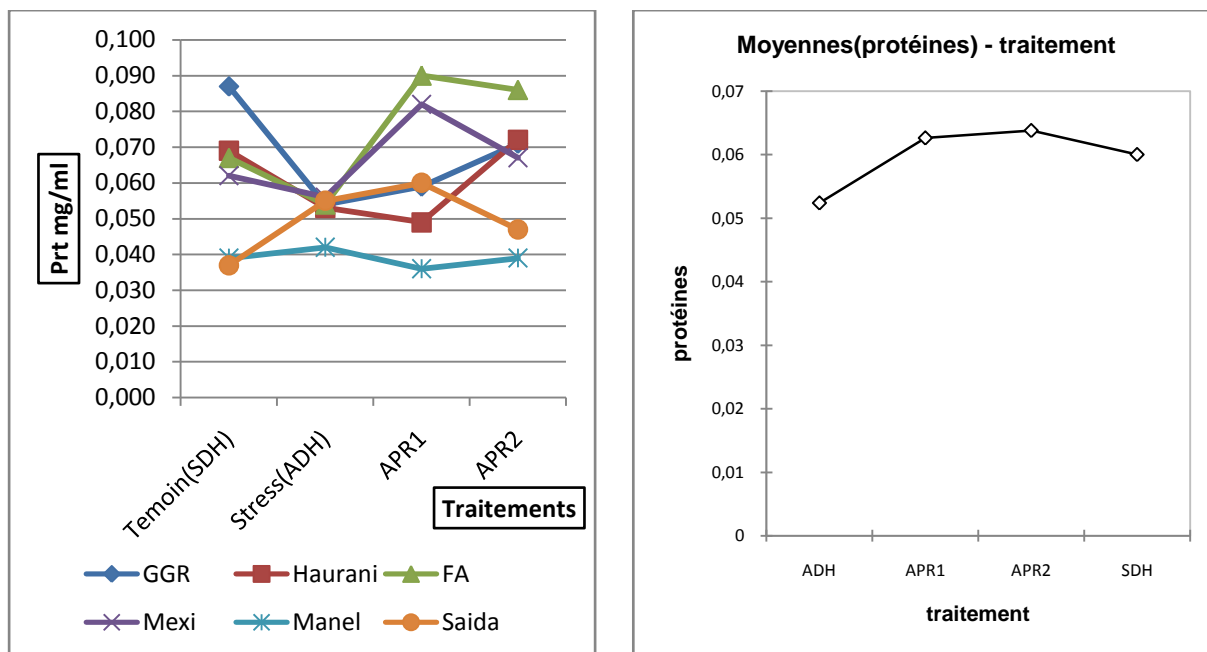
diminue au niveau des feuilles lors d'un stress oxydatif, cette diminution est montrée chez le Cotton stressé (*Gossypium hirsutum* L.) et aussi chez (*Atriplex halimus*).

Cependant et dans cette même période d'insuffisance hydrique l'orge accumule plus de protéines dépassant ainsi les témoins d'un ordre de 7,69 % chez Manel et de 48,65 % chez Saida (Figure 50).



**Figure 50.** Effet du stress hydrique sur la concentration protéique des six génotypes étudiés durant les quatre traitements hydrique au stade Épiaison.

Le contenu en protéines augmente suivant l'imposition des deux traitements APR1 et APR2 (Figure 51). Cette accumulation est significative entre les deux traitements, les plantes après une semaine de réhydratation semblent accumuler des quantités plus importantes qui dépassent largement celles des témoins et des stressés chez tous les génotypes (environ 28% chez FA). Ce trait n'a pas été détecté chez GGR uniquement au niveau de laquelle la concentration atteint son maximum avant l'application du stress (0.087 mg/ml), comme il a été suggéré par Kizis *et al* (2001) et Jangpromma (2007) le changement dans l'expression des protéines est l'un des résultats de la modification du métabolisme lors d'un stress chez les plantes. Nos résultats laissent supposer que les plantes ont subi le phénomène de dormance partielle : qui est une autre stratégie de tolérance des plantes pour survivre la saison sèche. C'est le cas par exemple de la légumineuse *Retama raetam* (Mittler *et al.*, 2001). Chez cette espèce, la dormance est évidente par la répression des gènes codés pour les protéines photosynthétiques. Ces protéines sont synthétisées au cours des 6 à 24 heures qui suivent la pluie.



**Figure 51.** Variation et moyennes des concentrations protéiques.

L'ANOVA entre deux facteurs des résultats obtenus a été « très hautement significatives » entre les génotypes  $p < 0,0001$  et « hautement significatif » entre les traitements hydrique et interaction entre facteurs (Annexe 15).

Le test SNK a permis de classer le facteur génotype en quatre groupes, le groupe A contient les trois variétés FA, GGR et Mexipak avec les moyennes (0,074 - 0,068 et 0,067) mg/ml respectivement, le groupe B se singularise par le génotype haurani avec 0,061 mg/ml, C par Saida avec 0,050 mg/ml et le dernier (D) contient Manel avec 0.039 mg/ml.

La synthèse des comparaisons multiples par paires a classé le facteur traitement en deux groupes : A : (APR2), (APR1) et (SDH). B : stress (ADH).

- $A > B \Rightarrow (APR2) \sim (APR1) \sim (SDH) > (ADH) \Rightarrow 0,064 \sim 0,063 \sim 0,060 > 0,052$ .

## 5. Proline- chlorophylle- stress oxydatif

Lors de notre analyse, l'apport excessif en proline suite à un arrêt d'irrigation a eu une répercussion négative sur la synthèse de la chlorophylle (selon les résultats précédents). En effet, l'accumulation de la proline dans notre cas a pu interférer avec les processus photosynthétiques d'une manière direct via une inhibition des enzymes de synthèse de la chlorophylle. La diminution de l'activité photosynthétique, lors d'un stress hydrique, est en relation avec la fermeture des stomates.



Ces résultats semblent en concordance avec d'autres travaux réalisés sur l'effet du stress hydrique sur les plantes ayant montré que ce stress induit la production et la formation des peroxydes d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Ces formes causent des dommages oxydatifs à différentes composantes cellulaires telles que les lipides membranaires, les protéines et les acides nucléiques.

On se référant aux essais qui ont été réalisés et des différents résultats rapportés dans ce mémoire on peut tirer qu'il ya un lien très étroit entre le stress oxydatif et la synthèse de la proline et la chlorophylle, et cela a été déjà démontrée chez nombreuses espèces et dans différentes situations de stress hydrique par plusieurs auteurs et ci-dessous des hypothèses qui peuvent renforcer nos conclusions :

- En situation de stress hydrique, la plante met en place des mécanismes d'adaptation pour rééquilibrer son statut hydrique, au dépend d'une fraction de son métabolisme. Suivant l'intensité et la durée du déficit hydrique, les différents processus métaboliques chez une plante seront plus ou moins affectés.
- Les cellules tendent à ajuster leur propre potentiel hydrique en rétablissant l'homéostasie ionique cellulaire, que ce soit par la compartimentation vacuolaire des ions toxiques (Na<sup>+</sup> et Cl<sup>-</sup>) et (ou) leur exclusion hors de la cellule. En revanche, si cela n'est pas suffisant, la plante devra utiliser un autre moyen pour faire face au stress hydrique, qui consiste à synthétiser et accumuler des solutés organiques osmoprotecteurs, ces solutés de faible poids moléculaire tels (proline, glycine bêtaïne et sucres solubles) facilitent l'extraction de l'eau des sols secs et le maintien de la turgescence cellulaire, ainsi que les échanges gazeux et la croissance dans des environnements très secs (Hongbo *et al.* 2006)
- Sur le plan énergétique, cette stratégie osmotique est beaucoup plus coûteuse que la régulation de l'homéostasie ionique. D'autre part, cette forme d'esquive induit chez la plante la production de formes actives d'oxygène qui provoquent un stress oxydatif dont la réduction des dommages pourrait se faire par le biais de la production d'antioxydants.
- En effet, le stress hydrique conduit généralement à un stress oxydatif dû à la fermeture des stomates (Ozkur *et al.*, 2009), ce qui entraîne une réduction excessive de la chaîne d'électrons photosynthétiques et la formation accrue des ROS dans les chloroplastes et les mitochondries (Asada 1999). Les ROS générées par le stress hydrique, telles que l'ion superoxyde, le peroxyde d'hydrogène et le radical hydroxyle, sont hautement réactives et peuvent perturber le métabolisme de la plante par la peroxydation des lipides (MDA), des protéines et des acides nucléiques (Ashraf 2009). Pour contrer les dommages causés par le

stress oxydatif, les plantes ont développé des mécanismes de protection, comme la synthèse de pigments protecteurs tels que les caroténoïdes (Car) (Efeoğlu *et al.*, 2009), et l'accumulation d'enzymes antioxydantes telles que les superoxydes dismutases (SOD), La catalase (CAT), La peroxydase (POD), L'ascorbate peroxydase (APX) .

➤ Un autre paramètre physiologique indicateur, relatif à l'état de santé de la plante, est la teneur en pigments photosynthétiques (Shah *et al.*, 2011). Le stress hydrique entrave considérablement le processus de la photosynthèse en altérant l'ultra structure des organites et la concentration des divers pigments et métabolites impliqués dans ce processus (Batra *et al.*, 2014); il entraîne également une forte baisse de la teneur en chlorophylle a (Chl a), en chlorophylle b (Chl b) et en chlorophylle totale (Chl a+b) (Bouchemal *et al.*, 2019) Cette diminution est due principalement aux dommages causés aux chloroplastes par les espèces réactives d'oxygène (ROS).

# ***CONCLUSION***

Dans le but d'essayer à explorer les voies de signalisation impliquées dans l'accumulation de la proline et de sa dégradation lors d'un déficit hydrique et après réhydratation, nous avons tenté de vérifier les principales réactions élaborées par la plante afin de faire face et de s'adapter au stress hydrique.

La tolérance au stress hydrique demeure la résultante de nombreux mécanismes adaptatifs fonctionnels durant la vie de la plante. La réponse des plantes au changement de stress varie selon l'intensité du stress et les caractéristiques de la plante même.

Les résultats de cette étude ont montré que le déficit hydrique a influencé sur les différents paramètres étudiés chez les six variétés, son application prolongée provoque une accumulation de la teneur en proline dans les feuilles des deux genres expérimentés par rapport à celle des témoins. Cependant, cette accumulation est en faveur du genre *Triticum* à côté du genre *Hordeum* avec une diversité remarquable au sein des différentes variétés.

Quant à la composition totale en chlorophylle des organes étudiés, elle évolue en dents de scie n'entraînant aucune tendance indicative lors des différents traitements.

Après le retour de l'arrosage (20 j après), il est observé une diminution progressive de la teneur en proline (APR1 et APR2), particulièrement chez les deux génotypes d'orge, et aucun changement concernant les teneurs en chlorophylle.

Les résultats auxquels nous sommes parvenus suggèrent donc une relation entre l'évolution de la proline et celle de la chlorophylle comme il est proposé par certains auteurs.

La sécheresse est un phénomène complexe qui conduit souvent à un stress oxydatif. Dans cette contribution, les activités CAT, APX et POD présentent une augmentation juste après l'application du traitement hydrique déficitaire, l'augmentation sous ADH est souvent très prononcée, puis diminuent plus loin dans le suivant traitement, la réduction est moindre sous APR2 que sous APR1 chez la plupart des génotypes au niveau de ces trois activités. Cependant l'activité SOD diminue continuellement depuis le début des traitements au-dessous du niveau des témoins.

La MDA est généralement corrélée avec la totalité des enzymes antioxydantes. Dans cette étude la production de MDA est différente d'une variété à une autre. Les conditions de contrainte hydrique, ont entraîné chez les six variétés étudiées une grande variabilité de réponse face au stress hydrique qui a causé une production des ROS chez les six variétés. Le dosage de la proline a permis de quantifier le taux des dommages car cette dernière a un rôle défensif très important contre le stress oxydatif.

Donc l'accumulation de la proline semble plutôt être une complexe réaction de la plante qu'un comportement d'adaptation et de tolérance au stress. L'augmentation de la concentration de proline est consécutive à la stimulation de sa synthèse. Il semble que cette stimulation de proline soit parallèle à une activation globale d'une voie métabolique partant du glutamate semi-aldéhyde et conduisant à la proline, elle agit en tant que composé soluble compatible dans l'ajustement osmotique pouvant atteindre de fortes concentrations sans exercer d'effet toxique. En plus du rôle osmotique attribué à la proline, celle-ci intervient dans la détoxification des formes actives d'oxygène.

Quand à son devenir après réarrosage, la réduction du taux de proline constatée après une récupération d'eau par les plantes stressés laisse croire à une dégradation de celle-ci, ce fait est dû au processus d'oxydation de la proline qui s'active de nouveau après la réhydratation.

***Références***  
***Bibliographiques***

- Alem C & Amri A (2005).** Importance de la stabilité des membranes cellulaires dans la tolérance à la salinité chez l'orge. *Reviews in Biology and Biotechnology*, Vol. 4, No.1:20-31.
- Amokrane A, Bouzerzour H, Benmahammed A & Djekoun A (2002).** Caractérisation des variétés locales, Syriennes et européennes de blé dur évaluées Constantine, numéro spécial D. 33 – 38.
- Arnon DI (1949).** Copper enzymes in isolated chloroplasts. *Plant. Physiol*, 24: 1-15.
- Aroca R, Irigoyen JJ & Sanchez-Diaz M (2003).** Drought enhances maize chilling tolerance. II. Photosynthetic traits and protective mechanisms against oxidative stress. *Physiologia Plantarum* 117: 540-549.
- Arora A, Sairam RK & Srivastava GC (2002).** Oxidative stress and antioxidative system in plants. *Curr. Sci-Bangalore* .82:1227-1238.
- Asada K (1994).** Ascorbate peroxidase- a hydrogen peroxide scavenging enzyme in plants. *Physiologia Plantarum* 85: 235-241.
- Asada K (1999).** The Water-Water Cycle in chloroplasts: Scavenging of active oxygen and dissipation of excess photons. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 50: 601-639.
- Ashraf MY, Azmi AR, Khan AH & Ala SA (1994).** Effect of water stress on total phenols, peroxidase activity and chlorophyll content in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Acta Physiologiae Plantarum* 16: 85-191.
- Ashraf M (2009).** Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. *Biotechnol. Adv.* 27 : 84-93. doi:10.1016/j.biotechadv.2008.09.003.
- Assche FV & Clijsters H (1990).** Effects of metals on enzyme activity in plants. *Plant Cell Environ.* 13:195-206.
- Badiani M, De Biasi MG, Colognola M & Artemi F (1990).** Catalase, peroxidase and superoxide dismutase activities in seedlings submitted to increasing water deficit. *Agrochimica* 30: 90-102.
- Badyal SK, Metcalfe CL, Basran J, Efimov I, Moody PCE, Raven EL. 2008.** Iron oxidation state modulates active site structure in a heme peroxidase. *Biochemistry* 47: 4403-4409.
- Bagga AK, Ruwali KN & Asana RD (1970).** Comparison of responses of some Indian and semi-dwarf Mexican wheats to unirrigated cultivation. *Indian J AgricSci* 40, 421-427.
- Baggiolini M (1952).** Les stades repères dans le développement annuel de la vigne et leur utilisation pratique. *Rev. Romande Agric. Vitic. Arboric* 1 : 4-6.
- Bajji M (1999).** Étude des mécanismes de résistance au stress hydrique chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.) : caractérisation de cultivars différant par leurs niveaux de résistance à la sécheresse et de variants somaclonaux sélectionnés in vitro. PhD Thesis, Université catholique de Louvain, Louvain-la-Neuve.

- Bajji M, Lutts S & Kinet JM (2001).** Water deficit effects on solute contribution to osmotic adjustment as a function of leaf ageing in three durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars performing differently in arid conditions. *Plant Sci.* 160: 669-681.
- Barouki R & Morel Y (2001).** Repression of cytochrome P450 1A1 gene expression by oxidative stress: mechanisms and biological implications. *BiochemPharmacol.* **61**:511-516.
- Barouki R (2006).** Stress oxydant et vieillissement. *Medecine/Sciences.* **22(3)** :266-272.
- Batra NG, Sharma V & Kumari N (2014).** Drought-induced changes in chlorophyll fluorescence, photosynthetic pigments, and thylakoid membrane proteins of *Vigna radiata*. *J. Plant Interact.* 9 :712-721.
- Belkhdja M & Benkabilia M (2000).** Proline response of faba bean (*Vicia faba* L.) under salt stress. *Egypt. J. of Agric. Res.*, 78,(1), p.185-195.
- Bellhassen E, This D & Monneveux P (1995).** L'adaptation génétique face aux contraintes de la sécheresse. *Cahiers agricultures* ; pp 251-261.
- Bellinger Y & Larher F (1987).** Proline accumulation in higher plants: A redox buffer? *Plant Physiol.(Life Sci. Adv.)* 6: 23-2
- Bellinger Y, Bensaoud A & Lahrer P (1989).** Physiological accumulation: a trait of use to breeding for stress tolerance *Physiology breeding of winter cereals for stress environments Colloque, N°3, Montpellier, France.*
- Ben Naceur MB, Nailly M & Selmi M (1999).** Effet d'un deficit hydrique, survenant à différents stades de développement du blé, sur l'humidité du sol, la physiologie de la plante et les composantes du rendement. *Medit*, 01/06/1999, n. 2, p. 53-60.
- Ben Rejeb K, Abdelly C & Savouré A (2012).** Proline, a multifunctional amino-acid involved in plant adaptation to environmental constraints. *Biologie Aujourd'hui*, **206**: 291-299.
- Bengston C, Klockare B, Klockare R, Larsson S & Sundquist C (1978).** The after effect of water stress on chlorophyll formation during greening and the level of abscisic acid and proline in dark grown wheat seedlings. *Plant Physiol.*, 43, pp. 205-212.
- Benhamdi A, Bentellis A, Rached O, Du laing G & Mechakra A (2014).** Effects of antimony and arsenic on antioxidant enzyme activities of two steppic plant species in an old antimony mining area. *Biol. Trace Elem. Res.* 158 : 96-104.
- Benhamou N & Rey P (2012).** Stimulateurs des défenses naturelles des plantes : une nouvelle stratégie phytosanitaire dans un contexte d'écoproduction durable. I. Principes de la résistance induite. *Phytoprotection* 92 : 1-23.
- Benkhokha A (2007).** L'effet d'un stress hydrique sur l'accumulation des osmotocums et la résistance stomatique chez deux générations de blé dur. En vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en AMP, Dept SNV Université de Constantine. 6p.



- Benlaribi M & Monneveux PH (1988).** Étude comparée du comportement, en situation de déficit hydrique, de deux variétés algériennes de blé dur (*Triticum durum* Desf.) adaptées à la sécheresse. C.R. Acad. Agric. Fr., 74 (5), 73-83.
- Benlaribi M (1990).** Adaptation au déficit hydrique chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.) : Étude des caractères morphologiques et physiologiques. Thèse de doctorat d'état ISN. Université Constantine.
- Benlaribi M, Monneveux P & Grignac P (1990)** Étude des caractères d'enracinement et de leur rôle dans l'adaptation au déficit hydrique chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.). Agronomie 10 : 305-322
- Benlaribi M & Chaib G (1995).** Is proline accumulation a character of tolerance to drought? Congrès inter-drought, Montpellier . proceeding, INRA, W-5.
- Benlaribi M, Merghem R, Zerafa C, & Chaib G (2014).** Une molécule, un métabolite primaire de contraintes mésologiques : la proline. Revue des régions arides Numéro spécial- n° 35 : 1129-1138.
- Bergmann E, Bender J & Weigel H (1995).** Growth responses and foliar sensitivities of native herbaceous species to ozone exposure. Water, Air and Soil Pollution. 85: 1437-1442.
- Bernard R (2006).** L'eau et la vie Ed. Dauphin. Paris 13-39 p.
- Bewley JD (1981).** Seeds : physiology of development and germination, 2<sup>nd</sup> edn. Plenum press, New York.
- Bezzalla A (2005).** Essai d'introduction de l'arganier (*argania spinosa* (L.) Skeels) dans la zone M'doukel et évaluation de quelques paramètres de résistance à la sécheresse. Mémoire de Magistère en Sciences agronomique, Université Al Hadj Lakhadar- Batna, Batna, p.143.
- Blum A (1989).** Crop responses to drought and interpretation of adaptation . plant growth regulation 20:135- 148.
- Boggess SF, Aspinall D & Paleg (1976).** Stress metabolism. IV: The significance of end product inhibition of proline synthesis and of compartmentation in relation to stress induced proline accumulation. Aust. J. plant. Physiol., 3, 513-525.
- Bolwell GP (1995).** Cyclic AMP the reluctant messenger in plant cells. Trends in Biochemical Sciences 20 : 492 – 495.
- Bonnefont-Rousselot D, Therond P & Delattre J (2003).** Radicaux libres et antioxydants. Ed : Flammarion médecine-science, 59-81.
- Boo YC & Jung J (1999).** Water Deficit -Induced Oxidative Stress and Antioxidative Defenses in Rice Plants. Journal of Plant Physiology 155, 255-261.
- Bota J, Medrano H & Flexas J (2004).** Is photosynthesis limited by decreased Rubisco activity and RuBP content under progressive water stress? New Phytologist. 162:671–681.

- Bouchemal K, Bouldjadj R, Belbekri MN, Ykhlef N & Djekoun A (2017).** Differences in antioxidant enzyme activities and oxidative markers in ten wheat (*Triticum durum* Desf.) genotypes in response to drought, heat and paraquat stress. *Arch. Agron. Soil Sci.* 63 : 710-722. doi:10.1080/03650340.2016.1235267
- Bouchemal K, Bouldjadj R, Belbekri MN, Ykhlef N & Djekoun A (2019).** Pigments photosynthétiques, enzymes antioxydantes et potentiel osmotique foliaire de dix génotypes de blé dur (*Triticum durum*) : effet du stress hydrique. *Phytoprotection*, 98 (1), 13–24.
- Boufenar-Zaghouane F & Zaghouane O (2006).** Guide des principales variétés de céréales à paille en Algérie (blé dur, blé tendre, orge et avoine). ITGC d'Alger, 1ère Ed, 152p.
- Bouras FZ (2001).** Effet du stress hydrique sur les composantes du rendement de quelques génotypes de blé dur. Thèse de magister I.N.A. El Harrach.84 :15-23.
- Bousba R, Ykhlef N & Djekoun A (2009).** Water use efficiency and flag leaf photosynthetic in response to water deficit of durum wheat(*Triticum durum*) world journal of agricultural sciences . 5 : 609-616.p.
- Bowler C, Montagu MV & Inzé D (1992).** Superoxide dismutase and stress tolerance. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 43: 103-116.
- Bozzini A (1988).** « Origin, distribution, and production of durum wheat in the world ». Dans Fabriani G et Lintas C (éd). *Durum : chemistry and technology*. AACCC (Minnesota), Etat-Unis. P.1-16.
- Bray EA (1997).** Plant responses to water deficit. *Trends Plant Sci.*2: 48–54.
- Bray EA, Bailey-Serres J & Weretilnyk E (2000).** Responses to abiotic stresses. In: Gruissem W, Buchanan B, Jones R (eds) *Biochemistry and molecular biology of plants*. American Society of Plant Physiologists, Rockville, MD, pp 1158–1249.
- Bruce WB, Edmeades GO & Barker TC (2002).** Molecular and physiological approaches to maize improvement for drought tolerance. *Journal of Experimental Botany* 53: 13-25.
- Buckley TN & Mott KA (2002).** Stomatal water relations and the control of hydraulic supply and demand. *Progress in Botany* 63: 309-325.
- Bueno P, Piqueras A, Kurepa J, Savoré A, Verbuggen N, Montagu MV & Inzé D (1998).** Expression of antioxidant enzymes in responses to Abscisic acid and high osmoticum in tobacco BY-2 cell cultures. *Plant Science* 138: 27- 34.
- Cai H, Biswas DK, Shang AQ, Zhao LJ & Li WD (2007).** Photosynthetic response to water stress and changes in metabolites in *Jasminum sambac*. *PHOTOSYNTHETICA* 45.4: 503 - 509 p.
- Campalans A, Messegueur R, Goday A & Pagès M (1999).** Plant responses to drought, from ABA signal transduction events to the action of the induced proteins. *Plant Physiol. Biochem.* 37. 5: 327 - 340 p.

- Carceller J (1995).** Proline and the export of N compounds from senescing leaves of Maize under water stress. INRA , Inter drought VI.
- Cecchini MN, Monteoliva IM & Marya EA (2011).** Proline dehydrogenase contributes to pathogen defense in Arabidopsis. Plant Physiol, , 155, 1947–1959.
- Chadefaud M & Emberger L (1960).** Traité de botanique. Systématique. Les végétaux vasculaires par L. Emberger. Fasciculé Masson et Cie. Tome II, 753p.
- Chaib G (1998).** Teneur en proline chez les différents organes de blé dur (*Triticum durum desf*) : essai d'explication des conditions d'accumulation sous manque d'eau. Thèse de Magister. Université de Constantine, Algérie.120p.
- Chaib G & Benlaribi M (2006).** Proline Accumulation in durum wheat (*Triticum durum* Desf.) under water deficit. Arab. Univ. J. Agric. Sci., Ain Schams Univ ,Cairo,14(1),235-247.
- Chaib G, Hazmoune T & Benlaribi M (2008).** Impact de stress hydrique sur le test proline autant qu'indicateur à la biodiversité de blé dur .Annales de l'INRGREF, Actes des Journées Scientifiques de l'INRGREF, « La biodiversité dans les aires Protégées » Hammamet, Tunisie, 11-13 .Novembre 2008.Numéro Spécial (12),732-746.
- Chaib G, Benlaribi M & Hazmoune T (2015).** Accumulation d'osmoticums chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.) sous stress hydrique. European Scientific Journal ,vol.11(24),p.378-395.
- Chaitanya KV, Sundar D & Reddy AR (2001).** Mulberry leaf metabolism under high temperature stress. Biologica. Plantarm., 44 (3):379-384.
- Chaitanya KV, Krishna CR, Ramana GV & Beebi SK (2014).** Salinity stress and sustainable agriculture. Agricultural Reviews, vol. 35 (1), pp. 34-41.
- Chance B & Meahly AC (1955)** Assay of catalases and peroxidases. Methods of Enzymology 2: 764-775.
- Chance B & Meahly AC (1967).** Methods of biochemical analysis, in: Interscience publishers Inc. Glick D, New York.
- Chaves MM & Oliveira MM (2004).** Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. Journal of Experimental Botany 55: 2365-2384.
- Chaves MM, Maroco JP & Pereira JS (2003).** Understanding plant response to drought: from genes to the whole plant. Functional Plant Biology 30: 239-264.
- Chebab S, Belli N, Leghouchi E & Lahouel M (2009)** .Stress oxydatif induit par deux pesticides : l'endosulfan et le chlorpyrifos. *Environnement, Risques*.
- Cheftel JC & Cheftel H (1992).** Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments.V1. Tec & Doc. Paris .Lavoisier : 381 p.

- Chellali B (2007).** Marché mondial des céréales : l'Algérie assure sa sécurité alimentaire. Valable sur : <http://www.Lemaghreb.dz.com/admin/Folder 01/une.pdf> (31.05.2008).
- Clément JM (1981).** Dictionnaire Larousse Agricole. Librairie Larousse. ISBN 2-03-514301-2. 1207p.
- Clerget Y (2011).** Biodiversité des céréales Origine et évolution. In La biodiversité des céréales et leur utilisation par l'homme. Société d'Histoire Naturelle du Pays de Montbéliard. Extrait de la vidéoconférence du Service éducatif du Muséum Cuvier de la Ville de Montbéliard « La biodiversité des céréales et leur utilisation par l'homme » publié dans le bulletin 2011 de la Société d'Histoire Naturelle du Pays de Montbéliard. 1-16p.
- Combes R (1946).** La forme des végétaux et le milieu. Armand Collin. 228 p.
- Comstock JP & Mencuccini M (1998).** Control of stomatal conductance by leaf water potential in *Hymenoclea salsola* (T. & G.), a desert subshrub. *Plant, Cell and Environment* 21: 1029-1038.
- Cornic G (2002).** Photosynthetic carbon reduction and carbon oxidation cycles are the main electron sinks for photosystem II activity during a mild drought. *Ann. Bot.* **89**: 887- 894 p.
- Crowe JH, Hoekstra FA & Crowe LM (1992).** Anhydrobiosis. *physiol.* **54**:579-599 p.
- Dat J, Vandenberghe S, Vranosa E, Van Montagu M, Inze D, Van Breusegem F (2000).** Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. *Cellular and Molecular Life Sciences* 55: 779-795.
- Daud NA, Babji AS & Yusop SM (2013).** Antioxidant activities of red tilapia (*Oreochromis niloticus*) protein hydrolysates as influenced by thermolysin and alcalase. *AIP Conference Proceedings*, 1571, 687-691. <http://dx.doi.org/10.1063/1.4858734>.
- Daud NA, Babji AS & Yusop SM (2015).** Effects of enzymatic hydrolysis on the antioxidative and antihypertensive activities from red tilapia fish protein. *Journal of Nutrition & Food Sciences*, 5(387). <http://dx.doi.org/10.4172/2155-9600.1000387>.
- Davidson DJ & Chevalire PM (1990).** Pre- anthesis tiller mortality in spring wheat. *Crop SCI* ; 30.
- De Marly Y (1984).** Mécanismes génétiques de l'adaptation chez les végétaux. *Bull. Soc. bot. Fr., Actual. bot.*, 131, 125-137
- De Raissac M (1992).** Mécanismes d'adaptation à la sécheresse et maintien de la productivité des plantes cultivées *Agro Trop* (46) :29-31.
- Debaeke P, Gabelguenne M, Casals ML & Puech J (1996).** Élaboration du rendement du blé d'hiver en condition de déficit hydrique. Mise au point et test d'un modèle de simulation de la culture de blé d'hiver en conditions d'alimentation hydrique et azotée. *Epic phase-Blé agronomie* 16 : 25-27p.

- Déjardin A, Sokolov LN & Kleczkowski LA (1999)** .Sugar/osmoticum levels modulate differential abscisic acid-independent expression of two stress-responsive sucrose synthesis genes in *Arabidopsis*. *Biochem J* . **344**: 503 -509 p.
- Del Rio JA, Ortuno A, Baidez A, Gomez P, Arcas MC, Porrás I & Garcia-Lidon A(2006)**.Citrus paradisi and Citrus sinensis flavonoids: Their influence in the defence mechanism against *Penicillium digitatum*. *Food Chem*. **98 (2)**:351-8.
- Delauney AJ & Verma DPS (1993)**. Proline biosynthesis and osmoregulation in plant. *The Plant Journal*, 4, 215-223. doi:10.1046/j.1365-313X.1993.04020215.x
- Demoffarts B, Kirschvink N, Pincemail J & Lekeux P (2005)**. Impact physiologique et pathologique du stress oxydant chez le cheval. *Ann MédVét*. **9(149)** :1-9.
- Dixit V, Pandey V & Shyam R (2001)**. Differential oxidative reponses to cadmium in roots and leaves of pea (*Pisum sativum* L. Cv. Azad). *J. Exp. Bot*. 52; 1101-1109.
- Dörfling K & Askman A (1989)**. Relationship between frost tolerance and formation of proline, abscisic acid and specific proteins in cold hardned winter wheat (*Triticum aestivum*) varieties. XII Eucarpia Congress.
- Drazkiewicz M, Skórzyńska-Polit E & Krupa Z (2004)**. *Copper-induced oxidative stress and antioxidant defence in Arabidopsis thaliana*. *Biometals* 17: 379–387.
- Dreier W (1987)**. The effect of calcium ions the proline content of salt stressed plants tissues. *Boil plant* (29) pp307-314.
- Dreier W & Goring M (1974)**. Der einfluss hoher Salzkonzèntationen auf Verschiedene physiologische parameter Von Maiswurzeln. *Wiss. Z. der H.U. Berlin, Nath. Naturwiss r.*, 23:641-644.
- Droge W (2002)**. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev.*; **82**: 47-95.
- Duffus CM & Binnie J (1990)**. Sacrose relationships during endosperm and embryo development in wheat. *Plant physiol. Biochem* 28 :161-165. dur (*Triticum durum*, Desf), en condition de déficit hydrique. Thèse de Magistère.
- Durak A, Buyukguner E & Dogan HM (2010)**. Determination of Physical and Chemical Properties of the Soils Under Different Land Managements. *Asian Journal of Chemistry* Vol. 22, No. 8 , 6375-6386.
- Efeoğlu B, Ekmekçi Y & Çiçek N (2009)**. Physiological responses of three maize cultivars to drought stress and recovery. *S. Afr. J. Bot*. 75 : 34-42. doi:10.1016/ j.sajb.2008.06.005.
- Ehleringer JR & Cooper TA (1992)**. On the role of orientation in reducing photoinhibitory damage in photosynthetic-twig desert shrubs. *Plant, Cell and Environment* 15: 301-306.

- Elhassani TA & persoons E (1994).** Agronomie moderne bases physiologiques et agronomiques de la production végétale *ED AUPELF-UREE*.544p.
- El Jaafari S (1993).** Contribution à l'étude des mécanismes biophysiques et biochimiques de la résistance à la sécheresse chez le blé (*Triticum aestivum L.*). *These de doctorat d'état*, 3 – 34.
- El Jaafari S (2000).** Durum wheat breeding for abiotic stresses resistance : Defining physiological traits and criteria. *Option méditerranéenne*, N°40, 251-256.
- Estill K, Delaney RH, Smith WK & Ditterline RL (1991).** Water relations and productivity of alfalfa leaf chlorophyll variants. *Crop Science* 31: 1229-1233.
- FAO (2018).** Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture *Situation alimentaire mondiale, Bulletin de la FAO sur l'offre et la demande de céréales*, Perspectives de récolte et situation alimentaire. La carte FAO, 6p. (Page consultée juillet 2018). <http://www.fao.org/worldfoodsituation/csdb/fr/>.
- Faridovich I (1995).** Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annu. Rev. Biochem.*, , 64:97-112.
- Favier A (2003).** Le stress oxydant. *L'actualité chimique*. **08**: 115.
- Feekes EC (1954).** Growth stages in cereals. *Plant Pathol.*3: 128-129.
- Feierabend J & Engel S (1986).** Photoinactivation of catalase in vitro and in leaves. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 251: 567-576.
- Feillet P (2000).** Le grain de blé. Composition et utilisation. *Mieux comprendre*, Ed. INRA, France. 57-90.
- Feldman M (1976).** Taxonomic Classification and Names of Wild, Primitive, Cultivated, and Modern Cultivated Wheats. Dans : Simmonds, N.W. (éd.), *Evolution of Crop Plants*. Longman, Londres: 120-128 p.
- Feldman M (2001).** Origin of Cultivated Wheat. In **Bonjean A.P. et W.J. Angus.** (éd.). *The World Wheat Book: a history of wheat breeding*. Intercept Limited. Andover. Angleterre : 3-58 p.
- Ferreira R, Sellés G, Ruiz RS & Sellés IM (2004).** Effect of water stress induced at different growth stages on grapevine cv. Chardonnay on production and wine quality. *Acta Hort.*664: 233- 236p.
- Flexas J , Bota J & Medrano H (2004).** Is photosynthesis limited by decreased Rubisco activity and RuBP content under progressive water stress? *New Phytologist* 162: 671-681.
- Flexas J, Bota J, Loreto F & Sharkey TD (2004) b .** Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C3 plants. *Plant Physiology* 6: 296-279.
- Flexas J, Chaves MM & Pinheiro C (2009).** Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Ann. Bot.*, 103 : 551–60.

- Folly P (2000).** Catabolisme de la chlorophylle b : structures-mécanismes et synthèses .Thèse de la faculté des sciences de l'université de Fribourg. Suisse. p192.
- Foyer CH & Mullineaux PM (1994).** Causes of photooxidative stress and amelioration of defense systems in plants. CRC Press: Boca Raton.
- Foyer CH & Noctor G (2000).** Oxygen processing in photosynthesis: regulation and signalling. *New Phytology* 146: 359-388.
- Francis GW, Hertzberg S, Andersen K & Liaaen-Jensen S (1970).** New carotenoid glycosides from *Oscillatoria limosa*. *Phytochemistry* 9:629–635
- Gallais A & Bannerot H (1992).** Amélioration des espèces végétales cultivées. Objectifs et critères de sélection. Ed : INRA, 768p.
- Gardner SG, Nielsen DA, Laczka O, Shimmon R, Beltran VH, Ralph PJ & Petrou K (2017).** Dimethylsulfoniopropionate, superoxide dismutase and glutathione as stress response indicators in three corals under short-term hypersalinity stress. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 283, 20152418.
- Gate P, Bouthiees A, Casablanca H & Dellens E (1993).** Caractère physiologiques décrivant la tolérance à la sécheresse du blé cultivé en France in mémoire online ; Nadjim chemseddine ; université de Sétif [en ligne] [http : www.memoireonline.com/08/08/2598](http://www.memoireonline.com/08/08/2598).
- Geigenberger P, Reimholz R, Geiger M, Merlo L, Canale V & Stitt M (1997).** Resolution of sucrose and starch metabolism in potato tubers in response to short-term water deficit. *Planta*. 201: 502 -518 p.
- Gill SS & Tuteja N (2010).** Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol. Biochem.* 48:909-930. doi:10.1016/j.plaphy.2010.08.016.
- Gillham Dj & Dodge AD (1986).** Hydrogen – peroxide scavenging systems within pea chloroplasts. A quantitative study. *Planta* 167: 246- 251.
- Gowing DJ, Davies WJ & Jones HG (1990).** A positive root-sourced signal as an indicator of soil drying in apple, *Malus × domestica* Borkh. *Journal of Experimental Botany* 41:1535-1540.
- Gravot A (2009).** Introduction au métabolisme secondaire chez les végétaux. Support de cours sur le métabolisme secondaire d'Antoine Gravot (Equipe pédagogique Physiologie Végétale, UMR 118 APBV). Université de Rennes 1. 15p.
- Guan L & Scandalios JG (1998).** Two structurally similar maize cytosolic superoxide dismutase genes, Sod4 and Sod4A, respond differentially to abscisic acid and high osmoticum. *Plant Physiology* 117: 217-24.
- Hadi M (2004).** La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse Présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Sciences de l'Université Louis Pasteur Domaine : Pharmacochimie. 155p.

- Halliwell B (2006).** Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant physiology* 141(2): 312-322.
- Handa S, Handa AK, Paul MH & Ray AB (1986).** Proline accumulation and the adaptation of cultured plants cells to water stress. *Plant physiol.* 80, 938-945.
- Hanson AD, Nelson LE & Everson EH (1977).** Evaluation of free praline accumulation as an index of drought resistance using two contrasting barley cultivars. *Crop sci* ; 17 : 720-722.
- Hanson MR, Ishida H, Yoshimoto K, Izumi M, Reisen D, Yano Y, Makino A, Ohsumi Y & Mae T (2008).** Mobilization of Rubisco and Stroma-Localized fluorescent Proteins of Chloroplasts to the Vacuole by an ATG Gene-Dependent Autophagic Process. *Plant Physiol.* p148.
- Hare PD & Cress WA (1997).** Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. *Plant cell and environment.* 21: 535 - 553 p.
- Hare PD, Cress WA & Van Staden J (1998).** Ditecting the roles of osmolyte accumulation during stress. *Plant cell and environment* ; 21 : 535-539.
- Hawker JS, Jenner CF & Niemietz CM (1991).** Sugar metabolism and compartmentation. *Aust J.Plant physiol*, 18 :227-237.
- Hayashi F, Ichino T, Osanai R & Wada K (2000).** Oscillation and regulation of proline content by *P5CS* and *ProDH* gene expressions in the light/dark cycles in *Arabidopsis thaliana* L. *Plant Cell Physiol*, , 41, 1096–1101.
- Hayden B (1990).** Nimrods, Piscators , Pluckers and Planters : the emergence of food production. *J. anthrop.Arehaeol.*, 9(1), 31.
- Hikosaka K, Ishikawa K, Borjigidai A, Muller O & Onoda Y (2006).** Temperature acclimation of photosynthesis: mechanisms involved in the changes in temperature dependence of photosynthetic rate. *J. Exp. Bot.* 57 : 291-302 p.
- Hilbert JL, Delporte M, Legrand G & Gagneul D (2015).** Selection and validation of reference genes for quantitative realtime PCR analysis of gene expression in *Cichorium intybus*. *Front. Plant Sci.* 6, 1– 11.
- Hiner ANP, Raven EL, Thorneley RNF, Garcia-Canovas F & Rodriguez-Lopez JN (2002).** Mechanisms of compound I formation in heme peroxidases. *J. Inorg. Biochem.* 91: 27-34.
- Hireche S (2006).** Réponse de la luzerne au stress hydrique et la profondeur du semis. Thèse de magistère. Université d’El Hadj Lakhdar Batna p83.
- Hobilalaina CB (2009).** L’importance de l’eau dans la vie de la plante / stomate/ osmose. Cours de physiologie végétale. École supérieure des sciences agronomiques. Université d’Antananarivo.
- Hongbo S, Zongsuo L & Mingan S (2006).** Osmotic regulation of 10 wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes at soil water deficits. *Colloids Surf. B.* 47:132-139.



- Hopkin WG (2003).** physiologie végétales. Ed. De boeck et larcier, p514.
- Hou W, Chen X, Song G, Wang Q & Chi chang C (2007).** Effects of copper and cadmium on heavy metal polluted waterbody restoration by duckweed (*Lemna minor*). Plant Physiology and Biochemistry Volume 45, Issue 1, Pages 62-69. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2006.12.005>
- Hsissou D (1994).** Sélection *In vitro* et caractérisation de mutants de blé dur tolérants à la sécheresse. Thèse de doctorat. Univ. Catholique de Louvain.
- Hubac C (1967).** C. R. Hebd. Seances Acad. Sci., Ser.D264: 1286-1289.
- Hubac C & Guerrier D (1972).** Étude de la composition en acides amines de deux *Carex* : *Carex sterophylla* at *Carex setifolia codourpeu* resistants. *Oecol. Plant.*, 7, 147-165.
- Hubac C & Vieira Da Silva J (1980).** Indicateurs métaboliques de contraintes mésologiques. *Physiol veg.* 18: 45-54.
- Huel P & Baker RJ (1989).** Tillering patterns of spring wheat genotypes grown in a semi arid environment. *Can J Plant Sci* ; 69P.
- Huseynova IM, Aliyeva DR & Aliyev JA (2014).** Subcellular localization and responses of superoxide dismutase isoforms in local wheat varieties subjected to continuous soil drought. *Plant Physiol. Biochem.* 81 : 54-60. doi:10.1016/j.plaphy.2014.01.018.
- Huseynova IM, Aliyeva DR, Mammadov AC & Aliyev JA (2015).** Hydrogen peroxide generation and antioxidant enzyme activities in the leaves and roots of wheat cultivars subjected to long-term soil drought stress. *Photosyn. Res.* 125 : 279-289. doi:10.1007/s11120-015-0160-7.
- Inze D & van Montagu M (1995).** Oxidative stress in plants. *Current Opinion of Biotechnology* 6: 153-158.
- Irigoyen JJ, Emerich DW & Sanchez-Diaz M (1992).** Alfalfa leaf senescence induced by drought stress: photosynthesis hydrogen peroxide metabolism, lipid peroxidation and ethylene evolution. *Physiologia Plantarum* 84: 67-72.
- ISIGE (1992).** Cours niveau Master 2 dans le cadre de l'Université Virtuelle Environnement & Développement durable (UVED), Institut supérieur d'Ingénierie et de Gestion de l'Environnement. <http://esige.ensmp.fr/index.php?page=presentation&id=70&url=6&demo=0&type=db&parentid=0>.
- Iturbe-Ormaetxe I, Escuredo PR, Arrese-Igor C & Becana M (1998).** Oxidative damage in Pea Plants Exposed to Water Deficit or Paraquat. *Journal of Plant Physiology* 116; 173-181.
- IUPAC (2014).** International Union of Pure and Applied Chemistry. Glossary of terms used in physical organic chemistry . 66, 1077- 1088.

- Jackson RB, Sperry JS & Dawson TE (2000).** Root water uptake and transport: using physiological processes in global predictions. *Trends in Plant Science* 5: 482-488.
- Jangpromma N, Kitthaisong S, Daduang S, Jaisil P & Thammasirirak S (2007).** 18 KDa protein accumulation in sugarcane leaves under drought stress conditions. *Kmitl .Sci. Tech. J.7*: 27- 44 p.
- Jeantet R, Croguennec T, Schuck P & Brulé G (2006).** Science des aliments : Biochimie- Microbiologie- Procédés- Produits. V2. Technologie des produits alimentaires. (éd). *TEC & DOC*. Paris.
- Jiang Y & Huang B (2001).** Effects of calcium on antioxidant activities and water relations associated with heat tolerance in two cool-season grasses. *Journal of Experimental Botany* 355: 341-349.
- Jonard P, Koller J & Vincent A (1952).** Evolution de la tige et del'épi chez la variété de blé Vilmorin 27 au cours de la période dereproduction. *Ann. Amél. Plant.*, I (3), 256-276.
- Jones MM, Osmond CB & Turner NC (1980).** Accumulation of solutes in leaves of sorghum and sunflower in response to water deficits. *Australian Journal of Plant Physiology* 7: 193-205.
- Jones HG, Flowers TJ & Jones MB (1989).** *Plants under stress*. Univ. Cambridge 31p.
- Joyce PA, Aspinall D & Plaeg LG (1992).** Photosynthesis and the accumulation of proline in response of water deficit. *aust. J. plant physiol.* 19, 249-261.
- Kaminaka H, Morita S, Tokumoto M, Masumura T & Tanaka K (1999).** Differential gene expressions of rice superoxide dismutase isoforms to oxidative and environmental stresses. *Free Radical Research* 31 Suppl, S219-225.
- Kaminska-Rozek E & Pukacki PM (2004).** Effect of water deficit on oxidative stress and degradation of cell membranes in needles of Norway spruce (*Picea abies*). *Acta Physiologiae Plantarum* 26: 431-442.
- Kanemasu ET (1972).** Stomatal diffusion resistance and potential as affected by preconditioning water stress in the field. *Agronomie Journal* . 68 : 707-708 p.
- Katsuhara M, Otsuka T & Ezaki B (2005).** Salt stress-induced lipid peroxidation is reduced by glutathione S-transferase, but this reduction of lipid peroxides is not enough for a recovery of root growth in *Arabidopsis*. *Plant Science*. Volume 169, Issue 2, Pages 369-373. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2005.03.030>.
- Kauss H (1977).** Biochemistry of regulation. In: Northcote. (eds). *International Review of Biochemistry*.

- Khales A & Baaziz M (2004).** Peroxydases d'*Opuntia ficus indica* L. Activités catalytiques et propriétés biochimiques. . In: Baaziz, M. et Hakkou, A. Actes du Congrès International de Biochimie-Forum des Jeunes Chercheurs, Marrakech, Maroc, 142-145.
- Khales A & Baaziz M (2006).** Étude des peroxydases d'écotypes d'*Opuntia ficus indica* L. en relation avec le développement dans des conditions de stress salin. In Actes du Deuxième Congrès International de Biochimie, Baaziz, M., Hakkou, A. & Serghini, A. ed. p :133-136.
- Khosravinejad F, Heydari R & Farboodnia T (2008).** Antioxidant responses of two barley varieties to saline stress. *Pakistan Journal of Biological*. 11: 905-909.
- Kim SY, Lim JH, Park MR, Kim YJ, Park TI, Seo YW, Choi KG & Yun SJ (2005).** Enhanced antioxidant enzymes are associated with reduced hydrogen peroxide in barley roots under saline stress. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*. 38: 218-224.
- Kim YH, Lee HS & Kwak SS (2010).** Differential responses of sweetpotato peroxydases to heavy metals. *Chemosphere* 81, 79-85.
- Kizis D, Lumberras V & Pagès M (2001).** Role of AP2/EREBP transcription factors in gene regulation during abiotic stress. *FEBS Letters* 498: 187-189.
- kosugi H & Kikugawa K (1985).** Thiobarbituric acid reaction of aldehydes and oxidized lipids in glacial acetic acid. *Lipids* 20, 915-921.
- Kotchi SO (2004).** Détection du stress hydrique par thermographie infrarouge, mémoire pour l'obtention du grade de maître des sciences(M.sc). Faculté de foresterie et géomatique, université Laval Québec. 6p.
- Kramer PJ (1983).** Water deficits and plant growth. *In* : Water relations of plants. Kramer (Eds.) Academic Press, New York. 342 - 389.
- Krieger-Liszkay A (2005).** Singlet oxygen production in photosynthesis. *J. Exp. Bot.* 56, 337-346.
- Krieger-Liszkay A, Fufezan C & Trebst A (2008).** Singlet oxygen production in photosystem II and related protection mechanism. *Photosynthesis Research* 98(1-3): 551- 564.
- Kumar RG & Dubey RS (1999).** Glutamine synthetase isoforms from rice seedlings: effects of stress on enzyme activity and the protective roles of osmolytes. *J Plant Physiol.* **155**: 118 - 121 p.
- Kuroda M, Ozawa T & Imagawa H (1990)** Changes in chloroplast peroxidase activities in relation to chlorophyll loss in barley leaf segments. *Physiologia Plantarum* 80: 555-560.
- Laberche JC (2004).** La nutrition de la plante In biologie végétale. Dunod. 2<sup>ème</sup> (éd). Paris : 154-163p.
- Lacaze X (2006).** Développer des plantes résistantes à la sécheresse. Exemple des recherches sur les céréales menées à l'Institut de L'Évolution. Ambassade France en Israël. Service de coopération & d'action culturelle 16 pp.

- Lahouel M (2005).** Interaction Flavonoïdes-Mitochondrie et rôle de la Propolis dans la prévention de l'apoptose induite par certains médicaments anticancéreux. Thèse de Doctorat d'Etat de L'Université de Constantine.
- Lapeyre C, Delomenede M, Bedos-Belval F, Duran H, Negre-Salvayre A & Baltas M. (2005).** Design, Synthesis, and Evaluation of Pharmacological Properties of Cinnamic Derivatives as Antiatherogenic Agents. *J. Med. Chem.*48:8115-8124.
- Larbier M & Leclercq B (1992).** Nutrition et alimentation des volailles. Edition QUAE. Inra 358 : 93-107.
- Larcher W (2000).** Temperature stress and survival ability of Mediterranean sclerophyllous plants. *Plant Biosystems* 134: 279-295.
- Laurent B & Ahmed B (1991).** La germination des semences en conditions sèches. Science et changements planétaires/Sécheresse., Volume2, Numéro 4 ,239-49.
- Lawlor DW & Cornis G (2002).** Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant, Cell and Environment* 25: 275-294.
- Leclerc JC (1999).** Écophysiologie végétale publication de l'université de Saint Etienne. Paris 283p.
- Le Dily F, Billard JP, Gaspar TH & Huault C (1993).** Disturbed nitrogen meta-bolism associated with the hyperhydric status of fully habituated callus of sugarbeet. - *Physiol. Plant.* 88: 129-134.
- Lee JH, Van Montagu M & Verbruggen N (1999).** A highly conserved kinase is an essential component for stress tolerance in yeast and plant cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 96: 5873-5877.
- Leeper FJ (1991).** dans *Chlorophylls*, H. Scheer (éd.), CRC Press, Boca Raton, USA, , p. 407-431.
- Lefebvre V (2005).** Caractérisation des gènes *AtNCED* impliqués dans la biosynthèse de l'acide abscissique dans la graine d'*Arabidopsis thaliana*. These de Doctorat. Institut National Agronomique. Paris-Grignon.
- Levigneron A, Lopez F, Vansuyt G, Berthomieu P, Fourcroy P & Casse-Delbart F (2005).** Les plantes face au stress salin. *Cah. Agr.*, 4: 263-73.
- Levine RL (2002).** Carbonyl modified proteins in cellular regulation, aging, and disease. *Free Radic Biol Med* 32, 790-796.
- Levitt J (1980).** "Salt and ion Stress. In : Responses of plant and regeneration in callus cultures". In : Genetic manipulations in plant breeding (Horn W, Jensen C.J, oldenbach.w and Schiederow [Ed], Berlin, Gryter : 617-619.
- Levitt J (1972).** Response of plants to environmental stresses, in water radiation, salt and other stress Academic press, New York and London. 275 -282.

- Lignowski EM & Splittstoesser WE (1971).** Arginine synthesis, proline synthesis and related process. In JOHN & THOMPSON (Eds): *The Biochemistry of plants*, 25, pp. 225-229.
- Liu WJ, Yuan S, Zhang NH, Lei T, Duan HG, Liang HG & Lin HH (2006).** Effect of water stress on photosystem 2 in two wheat cultivars. *Biologia Plantarum* 50: 597-602.
- Liu D, Lu Z & Liu S (2007).** Two rice cytosolic ascorbate peroxidases differentially improve salt tolerance in transgenic Arabidopsis. *Plant Cell Reports* 26(10): 1909-1917.
- Loretti E, De Bellis L, Alpi A & Perata P (2001).** Why and how do plant cells sense sugars ? *Ann Bot* 88 : 803-812.
- Lourtie B (2008).** Biologie végétale BIOCH I. Science on Stage Belgium. NSCSonS .Be 33p:7-11.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL & Randall RJ (1951).** Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem.*193, 265-275.
- Ludlow MM (1989).** Strategies of response to water stress. In: Kreeb KH, Richter H, Hinckley TM, eds. *Structural and functional responses to environmental stresses: water shortage*. The Hague: SPB Academic Publishing, 269-282.
- Luna CM, Gonzalez CA & Trippi VS (1994).** Oxidative damage caused by an excess of copper in Oat leaves. *Plant Cell physiol.* 35, 11-15.
- Luna CM, Pastori GM, Driscoll S, Groten K, Bernard S & Foyer CH (2004).** Drought controls on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> accumulation, catalase (CAT) activity and CAT gene expression in wheat *Journal of Experimental Botany* 56: 417-423.
- Mac Kiney G (1941).** Absorption of light by chlorophyll solution. *J. Biol. Chem.* 140 : 315-322.
- Maclachlan C & Zalik S (1963).** Plastid structure, chlorophyll concentration and free amino acid composition of a chlorophyll mutant of barley. *Canadian Journal of Botany*; 41:1053-1062.
- Madhava Rao KV, Raghavendra AS & Janardhan R (2006).** Printed in the netherlands. *physiology and molecular biology of stress tolerance in plants*. Springer :1-14p.
- Madjori S (2006).** Salinity and drought stresses: An overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 444:139-158.
- Maggio A, Bressan RA, Hasegawa PM & Locy RD (1997).** Moderately increased constitutive proline does not alter osmotic stress tolerance. *Physiologia Plantarum.* 101 : 240 - 246 p.
- Majumdar S, Ghosh S, Glick BR & Dumbroff EB (1991).** Activities of chlorophyllase, phosphoenol pyruvate carboxylase and ribuloses-1,5-bisphosphate carboxylase in the primary leaves of soybean during senescence and drought. *Physiologia Plantarum* 81: 473-480.

- Malki S, Chaib G & Benlaribi M (2002).** Contribution à l'étude de la biodiversité du blé (*Triticum* sp) par le test de la proline. Séminaire international : biologie et environnement Constantine le 20.21 et 22 Octobre .Algérie.
- Manifesto MM, Schlatter AR, Hopp HE, Suarez HE & Dubcovsky J (2010).** Quantitative evaluation of genetic diversity in wheat germplasm using molecular markers ; *Crop Sci* 41:682–690.
- Marklund S (1974).** Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur.J. Biochem.* 47, 469-474.
- Martinez CA, Loureiro ME, Oliva MA & Maestri M (2001).** Differential responses of superoxide dismutase in freezing resistant *Solanum curtilobum* and freezing *Solanum tuberosum* subjected to oxidative and water stress. *Plant Science* 160: 505-515.
- Mc Fadden ES & Sears ES (1946).** The origin of *Triticum spelta* and its free threshing hexaploid relatives. In K.S Quisenberry and L.f. Reitz : wheat and wheat improvement, Madison, USA, 19-87.
- Mc Michael BH & Elmore CD (1977).** Proline accumulation in water stressed cotton leaves. *Crop Sci.*, 17: 905-908.
- Mc.Kinney- Arnon DI (1949).** Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.* 24 : 1-15.
- Medrano H, Tomás M, Martorell S, Flexas J, Hernández E, Rosselló J, Pou A, Escalona JM & Bota J (2016).** From leaf to whole-plant water use efficiency (WUE) in complex canopies: Limitations of leaf WUE as a selection target. *Crop J.* 3, 220–228. doi:10.1016/j.cj.04.002
- Merabta S (2011).** Marqueurs de stress hydrique chez les céréales à pailles (*TRITICUM* et *HORDEUM*) à différents stades phénologiques. Thèse Master, université Constantine, 35-65.
- Mishra S, Srivastava S, Tripathi RD, Govindarajan R, Kuriakose SV & Prasad MNV (2006).** Phytochelatin synthesis and response of antioxidants during cadmium stress in *Bacopa monnieri* L.. *Plant Physiol. Bioch.* 44; 25-37. mitochondrial hydrogen-peroxide. *Febs Letters* 42: 68-72.
- Mitra J (2001).** Genetics and genetic improvement of drought resistance in crop plants. *Current Science* 80: 758-763.
- Mittler R, Merquiol E, Hallak-Herr E, Kaplan A & Cohen M (2001).** Living under a "dormant" canopy: a molecular acclimation mechanism of the desert plant *Retama raetam*. *Plant Journal* 25: 407-416.
- Mittler R (2002).** Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci.* 7, 405-410.
- Mocquot B, Vangronsveld J, Clijsters H & Mench M (1996).** Copper toxicity in young maize (*Zea mays* L.) plants: effects on growth, mineral and chlorophyll contents, and enzyme activities. *Plant Soil* 182, 287–300.

- Mohanty SK & Sridhar R (1982).** Physiology of ricetungro virus disease: proline accumulation due to infection. *Physiol. Plant*, 56:88-93.
- Møller IM, Jensen PE & Hansson A (2007).** Oxidative modifications to cellular components in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 58: 459-481.
- Monneveux P & Belhassen E (1996).** The diversity of drought adaptation in the wide. *Plant Growth Regul.*, 20 : 85-92.
- Monneveux Ph & Nemmar M (1986).** Contribution à l'étude de la résistance à la sécheresse chez le blé tendre (*Triticum aestivum* L.) et chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.). Etude de l'accumulation de la proline au cours du cycle de développement. *Agronomie*, 6(6), 583-590.
- Monneveux P & This D (1997).** La génétique face au problème de la tolérance des plantes cultivées à la : espoirs et difficultés. *Sécheresse* 8 (1) : 29–37.
- Monneveux P (1991).** Quelles stratégies pour l'amélioration génétique de la tolérance au déficit hydrique des céréales d'hiver (amélioration des plantes pour l'adaptation, aux milieux arides) Ed. Aupelp-UREF. John Libbey Eurotext Paris .pp165-186.
- Moore FC & Lobell DB (2015).** The Fingerprint of Climate Trends on European Crop Yields. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 11(9), 2670–2675.
- Morot-Gaudry JF (1997).** Assimilation de l'azote chez les plantes: Aspects physiologique, biochimique et moléculaire. Edition, Quae. 422 pages.
- Morris LC, Thompson JF & Johnson CM (1969).** - Metabolism of glutamic and N-acetyl glutamic acid in leaf discs and cell-free extracts of higher plants. *Plant Physiol.*, 44, pp. 1023-1026.
- Morrow JD (2000).** The isoprostanes: their quantification as an index of oxidant stress status in vivo. *Drug Metab Rev.* 32:377-385.
- Mouhouche B & Boulassel A (1997).** Gestion rationnelle des irrigations des compléments des cultures de légumineuses alimentaires et céréales. *Recherche agronomique. INRA.1* :21-31p.
- Moule C(1980).** Les céréales. Ed. Maison rustique. Paris. 318p.
- Mukherjee - Ashis K., Borah M & Rai Sudhir K (2009).**To study the influence of different components of fermentable substrates on induction of extracellular  $\alpha$ -amylase synthesis by *Bacillus subtilis* DM-03 in solid-state fermentation and exploration of feasibility for inclusion of  $\alpha$ -amylase in laundry detergent formulations. *Biochemical Engineering Journal*, 43: 149-156.
- Munné-Bosch S & Alegre L (2000).** The significance of  $\beta$ -carotene,  $\alpha$ -tocopherol and the xanthophylls cycle in droughted *Melissa officinalis* plants. *Australian Journal of Plant Physiology* 27:139-146.

- Nachit MM, Picard E, Monneveux P, Labhilili M, Baum M & Rivoal R (1998).** Présentation d'un programme international d'amélioration du blé dur pour le bassin méditerranéen. *Cahier Agric* ; 7 :510-515.
- Nakano Y & Asada K (1980).** Spinach chloroplasts scavenge hydrogen peroxide on illumination. *Plant and Cell Physiology* 21: 1295-1307.
- Nana R, Tamini Z, Sawadogo M (2009).** Effets d'un stress hydrique intervenu pendant le stade végétatif et la phase de floraison chez le gombo, *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 3(5): 1161-1170 P:5.
- Noctor G & Foyer CH (1998).** Ascorbate and glutathion : keeping active oxygen under control. *Annu. Rev.Plant. Physiol. Plant. Mol. Biol.*, , 49 : 249-279.
- Noctor G, Veljovic-Jovanovic S & Foyer CH (2000).** Peroxide processing in photosynthesis: antioxidant coupling and redox signalling. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. Ser. B.* 355 : 1465-1475.
- Noctor G, Veljovic-Jovanovic SD, Driscoll S, Novitskaya L & Foyer CH (2002).** Drought and oxidative load in wheat leaves. A predominant role for photorespiration? *Annals of Botany* 89: 841-850.
- Noctor G, Gomez L, Vanacker H & Foyer CH (2002).** Interactions between biosynthesis, compartmentation and transport in the control of glutathione homeostasis and signalling. *Journal of Experimental Botany* 53(372): 1283-1304.
- Noguchi T (2002).** Dual Role of Triplet Localization on the Accessory Chlorophyll in the Photosystem II Reaction Center: Photoprotection and Photodamage of the D1 Protein. *Plant and Cell Physiology.* 43:1112–1116.
- Nouri L (2002).** Ajustement osmotique et maintien de l'activité photosynthétique chez le blé dur (*Triticum durum*, Desf), en condition de déficit hydrique. Thèse de Magistère en Biologie végétale Univ *Mentouri*. Constantine. 77p.
- Nouri L, Ykhlef N & Djekoun A (2002).** Ajustement osmotique et comportement hydrique chez certaines variétés de blé dur : relation avec la tolérance à la sécheresse. Actes de séminaire ' IIIème journées Scientifiques sur le blé'.(éd). Univ. *Mentouri*. Constantine.
- OAIC (2017).** L'Office algérien interprofessionnel des céréales (OAIC) et des instituts techniques et scientifiques. <http://www.aps.dz/economie/73278-oaic-une-autosuffisance-a-hauteur-de-90-en-ble-dur-et-de-100-en-orge-a-partir-de-2020>.
- Ober S & Sharp P (1994).** Polyphasic chlorophyll fluorescence transients in plants and cyanobacteria. *Photosynthesis research.* 29: 147 -150 p.
- Osmond CB, Jones MM & Turner NC (1980).** Accumulation of solutes in leaves of sorghum and sunflower in response to water deficits. *Australian Journal of Plant Physiology* 7: 193-205.



- Ozkur O, Ozdemir F, Bor M & Turkan I (2009).** Physiochemical and antioxidant responses of the perennial xerophytes *Capparis ovata* Desf. to drought. *Environ. Exp. Bot.* 66: 487-492. doi:10.1016/j.envexpbot.2009.04.003.
- Parent C, Capelli N & Dat J (2008).** Formes réactives de l'oxygène, stress et mort cellulaire chez les plantes. *C. R. Biologies* 331 , 255–261.
- Pastori GM & Foyer CH (2002).** Common Components, Networks, and Pathways of Cross-Tolerance to Stress. The Central Role of “Redox” and Abscisic Acid-Mediated Controls *Plant Physiology* 129: 460-468.
- Pego JV, Kortstee AJ, Huijser C & Smeekens SCM (2000).** Photosynthesis, sugars and the regulation of gene expression. *Journal of Experimental Botany* 51: 407-416.
- Pei ZM, Murata Y, Benning G, Thomine S, Klusener B, Allen GJ, Grill E & Schroeder JI (2000).** Calcium channels activated by hydrogen peroxide mediate abscisic acid signalling in guard cells. *Nature* 406:731-734.
- Peltier JB, Ytterberg AJ, Sun Q, & van Wijk KJ (2004)** .New functions of the thylakoid membrane proteome of *Arabidopsis thaliana* revealed by a simple, fast, and versatile fractionation strategy. *J Biol Chem* 279:49367–49383.
- Peng Z, Lu Q & Verma DP (1996).** Reciprocal regulation of delta 1-pyrroline-5-carboxylate synthetase and proline dehydrogenase genes controls proline levels during and after osmotic stress in plants. *Mol Gen Genet*, , 253, 334–341.
- Pirzad A, Shakiba MR, Zehtab-Salmasi S, Mohammadi SA, Darvishzadeh R & Samadi A (2011).** Effect of water stress on leaf relative water content, chlorophyll, proline and soluble carbohydrates in *Matricaria chamomilla* L. *Journal of Medicinal Plants Research* 5: 2483- 2488.
- Polle A (1997).** Defense against photooxidative damage in plants. In: Scandalios J, editor. *Oxidative Stress and the Molecular Biology of Antioxidant Defenses*. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press pp. 785-813.
- Poorter H (1989).** Interspecific variation in relative growth rate: on ecological consequences. In: *Causes and consequences of variation in growth rate and productivity of higher plants*.
- Pourrut B, Perchet G, Silvestre J, Cecchi M, Guisresse M & Pinelli E (2008).** Potential role of NADPH-oxidase in early steps of lead-induced oxidative burst in *Vicia faba* roots. *J Plant Physiol* 165(6):571–579.
- Powers SK & Lennon SL (1999).** Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. *Proc Nutr Soc.*; **58**: 1025-1033.
- Prats H (1960).** Vers une classification des graminées. *Revue d'Agrostologie Bull. Soc Bot. France*: 32-79.

- Premachandra GS, Saneoka H, Fujita K & Ogata S (1992).** Leaf water relations, osmotic adjustment, cellmembrane stability, epicuticular wax load and growth as affected by increasing water deficits insorghum. *J.Exp. Bot.*, 43: 1569-1576.
- Pukacki PM & Kaminska-Rozek E (2005).** Effect of drought stress on chlorophyll a fluorescence and electrical admittance of shoots in Norway spruce seedlings. *Trees* 19: 539-544.
- Quartacci MF & Navari-Izzo F (1992).** Water stress and free radical mediated changes in sunflower seedlings. *Journal of Plant Physiology* 139: 621-625.
- Quisenberry JE, Jordan WR & Roark B (1981).** Exotic cottons as genetic sources for drought resistance. *crop science*, 21: 889-896.
- Rascio A, Platani C, Scalfati G, Tonti A & Difonzo N (1994).** The accumulation of solutes and water binding strenght in durum wheat, *physiol plant* 90:715-721.
- Raven EL, Lad L, Sharp KH, Mewies M & Moody PC (2004).** Defining substrate specificity and catalytic mechanism in ascorbate peroxidase. *Biochem Soc Symp.* (71):27-38.
- Raven PH, Evert RF & Eichhorn SE (2007).** *Physiologie Végétale 2<sup>e</sup> édition*, Bruxelles, Belgique, coll. « Editions De Boeck Université », 121 p. ([ISBN](#) 978-2-8041-5020-4).
- Rayapati PJ & Stewart CR (1991).** Solubilization of proline dehydrogenase from maize (*Zea mays* L.) mitochondria. *Plant Physiol.*, 95, pp. 787-791.
- Reddy PS & Veeranjanyulu K (1991).** Proline metabolism in senescing leaves of horsgram (*Macrotyloma uniflorum*Lam.). *J. Plant. Physiol.*, 137, pp. 381-383.
- Redjamia L (2006).** Accumulation de la proline comme indice moléculaire de (*Triticum durum* Desf.). Thèse magister, Université Constantine, 82p.
- Rejeb MN & Ben Salem M (1993).** Les divers mécanismes d'adaptation à la sécheresse chez les végétaux supérieurs, cas du blé et du caroubier. *Bull Soc Sci Nat* 22:49-52.
- Rhodes D, Handa S & Bressan RA (1986).** Metabolic changes associated with adaptation of plant cells to water stress. *Plant Physiol.* 82: 890-903.
- Rodrigues ML, Pacheco CA & Chaves MM (1995).** Soil-plant relations, root distribution and biomass partitioning in *Lupinus albus* L. under drought conditions. *Journal of Experimental Botany* 46:947-956.
- Roeder V (2006).** Recherche et étude de marqueurs moléculaires de la réponse au stress chez l'algue brune *Laminaria digitata*. Thèse. *Doc. Univ. Pierre et Marie Curie (Paris VI)* 264p.
- Salsac L & Monneveux Ph (1991).** Relation entre la nutrition minérale et la tolérance au déficit hydrique, 49-66. In. Acevedo E. Conesa A. P.Monneveux Ph. Srivastava J. P. (Eds) *Physiology-breeding of winter cereals for stressed Mediterranean environment*. Montpellier, France, 3-6 July 1989.Colloques INRA N° 55.

- Salvayre R, Auge N & Nègre-Salvayre A (2003).** Rôle de l'oxydation dans la genèse et la progression de l'athérosclérose. *L'athérosclérose: Physiopathologie, Diagnostics, Thérapeutiques.*, J.F., Toussaint, M.P., Jacob, L., Lagrost, J., Chapman, Eds. Masson: Paris, 14, 269-290.
- Samaras Y, Bresson RA, Csonka LN, Garcia-Rios MG, Paino D'Urzo M & Rhodes D (1995).** Proline accumulation during drought and salinity. In : **Sminoff N.** *Environment and plant metabolism, flexibility and acclimation.* Oxford BIOS. 161: 79- 88 p.
- Sanada Y, Ueda H, Kuribayashi K, Andoh T, Hayashi F, Tamai N, et al. (1995).** Novel light-dark change of proline levels in Halophyte (*Mesembryanthemum-Crystallinum* L.) and glycophytes (*Hordeum-Vulgare* L. and *Triticum-Aestivum* L.) leaves and roots under salt stress. *Plant Cell Physiol.* 36, 965–970.
- Satoh R, Nakashima K, Seki M, Shinozaki K & Yamaguchi-Shinozaki K (2002)** .ACTCAT, a novel *cis*-acting element for proline- and hypoosmolarity-responsive expression of the *ProDH* gene encoding proline dehydrogenase in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* ,130: 709–719.
- Savouré A, Jaoua S, Hua XueJun, Ardiles W, Van Montagu M & Verbruggen N (1995).** Isolation, characterization, and chromosomal location of a gene encoding the DELTA 1-pyrroline-5-carboxylate synthetase in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Letters* .**372**: 13 -19 p.
- Schulze ED, Beck E & Müller-Hohenstein K (2005).** *Plant ecology.* Springer. Berlin:117-143p.
- Schurr U, Gollan T & Schulze ED (1992).** Stomatal response to drying soil in relation to changes in the xylem sap composition of *Helianthus annuus*. II. Stomatal sensitivity to Abscisic acid imported from the xylem sap. *Plant, Cell and Environment* 15:561-567.
- Schurr U, Heckenberger U, Herdel K, Walter A & Feil R (2000).** Leaf development in *Ricinus communis* during drought stress: dynamics of growth processes, of cellular structure and of sink source transition. *Journal of Experimental Botany* 51: 1515-1529.
- Servet C, Ghelis T, Richard L, Zilberstein A & Savouré A (2012).** Proline dehydrogenase: a key enzyme in controlling cellular homeostasis. *Front. Biosci.* 17:3947. 10.2741/3947.
- Shah AR, Khan TM, Sadaquat HA & Chatha AA (2011).** Alterations in leaf pigments in cotton (*Gossypium hirsutum*) genotypes subjected to drought stress conditions. *Int. J. Agric. Biol.* 13: 902-908.
- Shao HB, Chen XY, Chu LY, Zhao XN, Wu G, Yuan YB, Zhao CX & Hu ZM (2006).** Investigation on the relationship of Proline with wheat anti-drought under soil water deficits. *Biointer.* 53: 113-119.
- Siakhène N (1984).** Effet du stress hydrique Sur quelques espèces de luzerne Annuelle. Mémoire ing Agr. INA. El Harrach : 90 p.
- Sies H (1997).** Oxidative Stress: Oxidants and Antioxidants. *Experimental Physiology*, 82, 291-295. <http://dx.doi.org/10.1113/expphysiol.1997.sp004024>

- Singh G & Rai VK (1980).** Responses of two *Cicer arietinum* L varieties to water stress. *Indian J. ecol*, 246-253.
- Sinha AK, Nathan AK & Singh AK (1985).** Radiation climate and water-use studies in intercropping systems. *J. Nuclear Agric. Biol.* 14 (2) : 64-69.
- Siripornadulsil S, Train S, Verma DPS & Sayre RT (2002).** Molecular mechanisms of proline mediated tolerance to toxic heavy metals in transgenic microalgae. *Plant Cell* 14:2837–2847.
- Slama A (2002).** Étude comparative de la contribution des différentes parties du plant du blé dur dans la contribution du rendement en grains en irrigué et en conditions de déficit hydrique. Thèse de doctorat en biologie, faculté des sciences de Tunis p52.
- Smirnoff N & Colombe SV (1988).** *J. Exp. Bot.* 39, 1097- 1108.
- Smirnoff N (1993).** The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and dessication. *New Phytologist* 125: 27-58.
- Smirnoff N (1998).** Plant resistance to environmental stress. *Current Opinion in Biotechnology* 9(2), 214-215.
- Smirnoff N (2005).** Ascorbate, tocopherol and carotenoids: metabolism, pathway engineering and functions, in *Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants*, ed Smirnoff N., editor. (Oxford: Blackwell publishing; ), 53–86.
- Soltner D (1980).** Les grandes productions végétales. 11 Ed Masson 20-30p.
- Soltner D (1990).** Phytotechnie spéciale, Les grandes productions végétales. Céréales, plantes sarclées, prairies. *Sciences et Technique Agricoles* éd.p 24.
- Soltner D (2005).** Les grandes productions végétales, 2<sup>ème</sup> édition. Collection science et techniques agricoles 472p.
- Soulère L, Cécile V, Jacques P & Pascal H (2002).** « Selective inhibition of Fe-versus Cu/Zn superoxide dismutases by 2, 3-dihydroxybenzoic acid derivatives. » *Chemical and pharmaceutical bulletin* 50 (5): 578–582.
- Steven E (2010).** Ullrich, *Barley: Production, Improvement, and Uses*, t. 12, John Wiley & Sons, coll. « World Agriculture Series », 500 p, 3p (ISBN 9780470958629).
- Stewart CR & Lee JA (1974).** The role of proline accumulation in halophytes. *Planta* 120 : 273-289.
- Stewart CR, Boggess F, Aspinall D & Paleg IG (1977).** - Inhibition of Proline oxidation by water stress. *Plant Physiol.*, 59, pp. 930-932.
- Stimulez JG & Hess JL (1982).** Oxygen effects on maize leaf superoxide dismutase and glutathione reductase. *Phytochemistry* 21: 1527-1532.

- Stryer L (1992).** La biochimie. 3ème éd. Paris : Flammarion. 1088 p.
- Sturtz LA, Jensen LT, Diekert K, Roland L (2001).** A fraction of yeast Cu,Zn-superoxide dismutase and its metallochaperone, CCS, localize to the intermembrane space of mitochondria. A physiological role for SOD1 in guarding against mitochondrial oxidative damage. *J Biol Chem* 276(41):38084-9.
- Sudhakar C, Lakshmi A & Giridarakumar S (2001).** Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. *Plant Sci.* 161:613-619.
- Szabados L & Savouré A (2010).** Proline: a multifunctional aminoacid. *Trends Plant Sci.* , 15, 89–97.
- Tahri E, Belabed A & Sadki K (1997).** Effet d'un stress osmotique sur l'accumulation de proline, de chlorophylle et des ARNm codant pour la glutamine synthétase chez trois variétés de blé dur. *Bulletin de l'institut scientifique. Rebat* 21 : 81-98p.
- Tan BH & Halloran GM (1982).** Variation and correlations of proline accumulation in spring wheat cultivars, *Crop. Sci* 22 :459-463.
- Tanaka K, Suda Y, Kondo N & Sugahara K (1985).** O<sub>3</sub> tolerance and the ascorbate-dependent H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> decomposing system in chloroplasts. *Plant Cell Physiol.*;26: 1425–1431.
- Tarczynski MC, Jensen RG & Bohnert HJ (1993).** Stress protection of transgenic tobacco by production of the osmolyte mannitol. *Science*, 259 (1993), pp. 508-510.
- Tardieu F (2005).** Plant tolerance to water deficit: physical limits and possibilities for progress. *C. R. Geoscience* 337:57–67.
- Tardieu F, Cruiziat P, Durand JL, Triboï E & Zivy M (2006)** Perception de la sécheresse par la plante. Conséquences sur la productivité et sur la qualité des produits récoltés ESCo "Sécheresse et agriculture" – Chapitre 1.1. pp 49-67.
- Tezara W, Mitchell VJ, Driscoll SD & Lawlor DW (1999).** Water stress inhibits plant photosynthesis by decreasing coupling factor and ATP. *Nature* 401:914-917.
- Toumi M, Barris S & Aid F (2014).** Effets des stress hydrique et osmotique sur l'accumulation de proline et de malondialdéhyde (MDA) chez deux variétés de colza (*Brassica napus* L.). *Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat, Section Sciences de la Vie*, 2014, n° 36, 17-24.
- Triboï E (1990).** Modèle d'élaboration du poids du grain chez le blé tendre. *Agronomie*. **10** : 191-200p.
- Troll W & Lindsley J (1955).** A photometric method for the determination of proline. *J. Biol. Chem.*, 215: 655-660.

- Tsimilli-Michael MM, Pêcheux RJ & Strasser (1998).** Vitality and stress adaptation of the symbionts of coral reef and temperate foraminifera probed in hospite. *O-Ji. Parchs.Sci. Genève*.51 :205-216p.
- Turner NC (1974).** Stomatal behavior and water status of maize, sorghum and tobacco under field conditions. *Plant physiol.* 53(3): 360–365.
- Turner NC (1986).** Crop water deficits: a decade of progress. *Advances in Agronomy* 39:1-51.
- Turner NC (1997).** Further progress in crop water relations. *Advances in Agronomy* 58:293-338.
- Turner NC (2003).** Adaptation to drought: lessons from studies with chickpea. *Indian Journal of Plant Physiology Special Issue*, 11-17.
- Tyerman SD, Niemietz CM & Bramley H (2002).** Plant aquaporins: multifunctional water and solute channels with expanding roles. *Plant, Cell and Environment* 25:173-194.
- Vadez V, Krishnamurthy L, Thudi M, Anuradha C, Colmer TD & Turner NC (2012).** Chickpea progenies shows sensitivity of reproduction to salt stress and reveals QTL for seed yield and yield components. *Mol Breed.*30:9–21.
- Valimunzigha CK (2006).** Étude du comportement physiologique et agronomique de la tomate (*Solanum lycopersicum L.*) en réponse à un stress hydrique précoce p : 109.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J (2007).** Free Radicals and Antioxidants in Normal Physiological Functions and Human Disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39, 44-84. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001>
- Van Slageren MW (1994).** A monograph of *Aegilops L* and *Amblyopyrum (Jaub&Spach) poaceae*. Wageningen agriculture university papers, 1994(7).
- Vansant G (2004).** Radicaux libres et antioxydants : principes de base. Symposium «Antioxydants et alimentation ». Institut Danone.
- Venekamp JH & Koot TM (1988).** The sources of free proline and asparagine in field bean plants, *Vicia faba L.*, during and after a short period of water withholding. *Journal of Plant Physiology.* 132 (1):1102-109.
- Vignais PV (2002).**The superoxide-generating NADPH oxidase: structural aspects and activation mechanism. *Cell Mol Life Sci.*59 (9):1428-59.
- Voetberg G & Sharp RE (1991).** Growth of the maize primary root at low water potentials. III. Role of increased proline deposition in osmotic adjustment. *Plant physiol* 96 : 1125-1130.
- Wadley G & Martin A (1993).** The origins of agriculture ; a biological perspective and new hypothesis. *Australian biologist* 6,96-105.
- Wardman P & Candeias LP (1996).** *Fenton chemistry: an introduction. Radiat Res* 145:523–531.

- Watts P & El Mourid M (1988).** Rainfall patterns and probabilities in the semi arid cereal production region of Monaco. USAID project. Aridoculture Center INRA 608-636.
- Weckx JEJ & Clijsters HMM (1997).** Zn phytotoxicity induces oxidative stress in primary leaves of *Phaseolus vulgaris* . Plant Physiology and Biochemistry 35, 405 – 410.
- Weinman S & Méhul P (2004).** Toute la biochimie. Dunod. 451: 157-299.
- Xiong L & Zhu JK (2003).** Regulation of abscisic acid biosynthesis. Plant physiology 133(1): 29-36.
- Xiong J, Zhang L, Fu G, Yang Y, Zhu C & Tao L (2012).** Drought-induced proline accumulation is uninvolved with increased nitric oxide, which alleviates drought stress by decreasing transpiration in rice. Journal of Plant Research 125: 155-164.
- Yancey PH (2005).** Organic osmolytes as compatible, metabolic and counter-acting cytoprotectants in high osmolarity and other stresses. *J. Exp. Biol.* 208, 2819–2830. doi: 10.1242/jeb.01730.
- 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.
- Yannarelli GG, Noriega GO, Batlle A & Tomaro ML (2006).** Heme oxygenase up-regulation in ultraviolet-B irradiated soybean plants involves reactive oxygen species. *Planta* .224:1154–1162
- Yoshida S (1975).** Factors that limit the growth and yields of up land rice. In Major research in upland rice in Los Banos. Philippines: 46-71.
- Yoshida K, Kaothien P, Matsui T, Kawaoka A & Shinmyo A (2003).** Molecular biology and application of plant peroxidase genes. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 60:665-670. doi:10.1007/s00253-002-1157-7.
- Zadoks JC, Chang TT & Konzak CF (1974).** A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Research*, 14: 415-421.
- Zerafa C (2006).** L'accumulation de la proline en tant que test précoce d'adaptation au déficit hydrique et indicateur moléculaire de diversité chez *Triticum aestivum* L. Mémoire de Magister. Fac des sciences, S.N.V, université de Constantine, 125p.
- Zerafa C (2017).** Diversité biologique dans les *Triticum* et *Hordeum* : possibilités de création d'une nouvelle variabilité génétique. . Thèse de Doctorat en sciences de l'Université de Constantine. 182p.
- Zerrad W, Hillali S, Mataoui B, El Antri S & Hmyene A (2006).** Étude comparative des mécanismes biochimiques et moléculaires de résistance au stress hydrique de deux variétés de blé dur, *Biochimie, Substances naturelles et environnement* Congrès international de biochimie. Agadir, 09-12 Mai: 361-376.

**Zhang J & Kirkham MB (1994).** Drought-stress-induced changes in activities of superoxide dismutase, catalase and peroxidase in wheat species. *Plant and Cell Physiology* 35: 785-791.

**Zhu JK (2002).** Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annual Review of Plant Biology* 53: 247-273.

**Zid E & Grignon C (1991).** Les tests de sélection précoce pour la résistance des plantes au stress. Cas des stress salin et hydrique. Dans : *L'Amélioration des Plantes pour l'Adaptation aux Milieux Arides*. Ed. AUPELF-UREF, John Libbey Eurotext, Paris, pp. 91-108.



# ***ANNEXES***

**ANNEXE 1.** Analyse ANOVA du modèle (Type ISS) de la proline des six génotypes étudiés au stade montaison.

Source	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F	Signification
Variétés	5	2403,984	480,797	26,371	< 0,0001	****
Traitement	3	11762,144	3920,715	215,042	< 0,0001	****
Variétés*Traitement	15	4242,550	282,837	15,513	< 0,0001	****

**ANNEXE 2.** Analyse ANOVA du modèle (Type ISS) de la proline des six génotypes étudiés au stade épiaison.

Source	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F	Signification
Variétés	5	5857,686	1171,537	41,189	< 0,0001	****
Traitement	3	182075,131	60691,710	2133,807	< 0,0001	****
Variétés*Traitement	15	25960,138	1730,676	60,847	< 0,0001	****

**ANNEXE 3.** Groupes homogènes de l'analyse du modèle (type I SS) Anova comparative entre phases de la proline.

Source	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F	Signification
Variétés	5	4547,087	909,417	38,968	< 0,0001	****
Stade	1	20787,147	20787,147	890,713	< 0,0001	****
Traitement	3	139815,261	46605,087	1996,992	< 0,0001	****
Variétés*Stade	5	3714,584	742,917	31,833	< 0,0001	****
Variétés*Traitement	15	11294,464	752,964	32,264	< 0,0001	****
Stade*Traitement	3	54022,014	18007,338	771,601	< 0,0001	****
Variétés*Stade*Traitement	15	18908,224	1260,548	54,014	< 0,0001	****

**ANNEXE 4.** Analyse ANOVA du modèle (Type ISS) de la chlorophylle « a+b » des six génotypes au stade montaison.

Source	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F	Signification
Variétés	5	25884,733	5176,947	456,341	< 0,0001	****
Traitement	3	24421,884	8140,628	717,586	< 0,0001	****
Variétés*Traitement	15	9071,679	604,779	53,310	< 0,0001	****

**ANNEXE 5.** Les groupes homogènes de l'interaction entre génotypes et traitements hydriques de la chlorophylle (a, b et totale) au stade montaison.

Stress	Genre	CHL	Génotype	Traitements
<b>phase montaison</b>	<b>Blé dur</b>	Chl A	GGR(A)=36.008 Hau (B)=31.313	Stress(A)=43.701 Témoin(B)=35.387 Apr 7 jour(B)=34.161 Apr24h(C)=21.193
		Chl B	GGR(A)=15.138 Hau(B)=8.731	Témoin(A)=23.176 Apr 7 jour(B)=19.954 Stress(C)=2.788 Apr 24h (C)=1.820
		Chl A+B	GGR(A)=51.146 Hau(B)=4.044	Témoin(A)=58.762 Apr 7 jour (B)54.114 Stress(C)=46.489 Apr2 24h (D)=23.013
	<b>Blé tendre</b>	Chl A	FA(A)=43.161 Mexi(B)=31.477	Apr 7jour (A)=51.058 Stress(B)=42.640 Témoin(C)=33.492 Apr 24h(D)=22.048
		Chl B	FA(A)=16.890 Mexi(B)=14.468	Apr 7 jour(A)=35.698 Témoin(B)=21.863 Apr 24h(C)(2.751) Stress(C)=2.405
		Chl A+B	FA(A)=60.050 Mexi(B)=45.945	Apr 7 jour(A)=86.756 Témoin(B)=55.355 Stress(C)=45.044 Apr 24h(D)=24.835
	<b>Orge</b>	Chl A	Manel (A) =9,791 Saida (B) =6,941	APR7jours (A) = 11.549 Stress (B) =8.952 Témoin (C) = 7.029 APR24h (C) =5.934
		Chl B	Manel (A) =4,666 Saida (B) =3,101	APR7jours(A)=8.201 Témoin(B)=4.602 APR24h( C)= 2.049 Stress(D)=0.683
		Chl A+B	Manel (A)= 14,457 Saida (B) =10,042	APR7jours (A)=19.750 Témoin(B)=11.630 Stress( C)=9.635 APR24h( C)=7.982

**ANNEXE 6.** Analyse ANOVA du modèle (Type I SS) de la chlorophylle « a+ b » chez les six génotypes au stade épiaison.

Source	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F	Signification
Variétés	5	29205,122	5841,024	274,265	< 0,0001	****
Traitement	3	2012,643	670,881	31,501	< 0,0001	****
Variétés*Traitement	15	2847,318	189,821	8,913	< 0,0001	****

**ANNEXE 7.** Les groupes homogènes de l'interaction entre génotypes et traitements hydriques de la chlorophylle (a, b et totale) au stade épisaison.

Stress	Genre	CHL	Génotype	Traitements
<b>phase épisaison</b>	<b>Blé dur</b>	Chl A	Hau (A) = 55.900 GGR(B)= 44.949	Témoin (A)= 56.606 Stress (A-B) = 50.958 APR 7 jours (B)=48.142 APR 24h (B) = 45.993
		Chl B	Hau (A)= 9.109 GGR (B) =7.377	APR 24h (A)= 17.589 Stress(B) = 6.063 APR7 jours (B-C)=5.454 Témoin (C) =3.867
		Chl A+B	Hau (A)= 65.008 GGR(B)= 52.327	APR 24h(A) = 63.582 Témoin (A)= 60.472 Stress (A)=57.020 APR 7 jours (A) = 53.596
	<b>Blé tendre</b>	Chl A	Mex(A) = 62.364 FA(B)= 50.726	Témoin (A)= 64.933 Stress(B)= 58.101 APR24h (B)=55.639 APR 7 jours(C)=47.407
		Chl B	Mex(A) =9.744 FA (B) = 8.906	APR 24h(A)=22.520 Stress(B)= 5.602 APR 7 jours (B)= 5.202 Témoin (C)=3.978
		Chl A+B	Mex(A) =72.108 FA(B)=59.632	APR 24h (A)= 78.159 Témoin (B)= 68.911 Stress (C) =63.802 APR 7 jours (D)=52.609
	<b>Orge</b>	Chl A	Manel (A)=25.431 Saida (B)= 12.679	Témoin (A)= 29.770 APR 24h (B) =20.958 Stress (c) =13.059 APR 7 jours (C)=12.433
		Chl B	Manel (A)= 2.575 Saida (B)= 2.027	APR 24h (A)= 4.402 Témoin (B)=2.024 APR 7 jours (C)= 1.428 Stress (C) = 1.351
		Chl A+B	Manel(A)=28.007 Saida(B)=14.706	Témoin(A) = 31.794 APR 24h(B)= 25.360 Stress (C)=14.409

**ANNEXE 8.** Groupes homogènes de l'analyse du modèle (type I SS) Anova comparative entre phases de la chlorophylle totale.

Source	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F	Signification
Variétés	5	52099,019	10419,804	638,439	< 0,0001	****
Stade	1	8358,622	8358,622	512,147	< 0,0001	****
Traitement	3	15743,645	5247,882	321,547	< 0,0001	****
variétés*Stade	5	2990,836	598,167	36,651	< 0,0001	****
variétés*traitement	15	4219,553	281,304	17,236	< 0,0001	****
Stade*traitement	3	10690,882	3563,627	218,349	< 0,0001	****
variétés*Stade*traitement	15	7699,443	513,296	31,451	< 0,0001	****

**ANNEXE 9.** Les classements obtenus montrent une bonne corrélation (inverse) entre les deux paramètres utilisés.

Facteur	Phase	Proline	chlorophylle
<b>Traitement hydrique</b>	<i>Montaison</i>	Stress ~ APR 1 > Témoin > APR2	APR2 >Témoin >Stress>APR1
	<i>Épiaison</i>	Stress > APR1 > APR2 > Témoin	APR2>APR1~Témoin>Stress
<b>Génotype</b>	<i>Montaison</i>	A>B >C <=> FA ~ Haurani > Manel > GGR ~ Saida <=> 31,687 ~ 28,373 > 23 ,336 > 15,711~ 18,114~ 18,56	A>B>C>D>E <=> Haurani~ FA > GGR > Mexi > Manel > Saida <=> 56,088~ 55,172 > 51,422> 42,397 > 14,457
	<i>Épiaison</i>	A>B>C>D <=>Manel~ GGR > FA > Haurani ~ Mexi > Saida <=> 59,070 ~ 57,757 > 46,599 > 41,226~ 40,753 >34,553	A>B>C>D>E <=> Mexi~ FA>Haurani>GGR>Manel >Saida <=>74,021~71,811>62,894>58,372>35,780

**ANNEXE 10.** Analyse du modèle (Type I SS) pour la teneur en Malonedialdéhydes (MDA) des six génotypes en épiaison.

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F	signification
variété	5	150,978	30,196	4,995	<b>0,001</b>	***
traitement	3	3002,845	1000,948	165,576	<b>&lt; 0,0001</b>	****
variété*traitement	15	445,930	29,729	4,918	<b>&lt; 0,0001</b>	****

**ANNEXE 11.** Analyse du modèle (Type I SS) de l'activité spécifique SOD des six génotypes.

Modalité	Moyennes estimées	Erreur standard	Borne inférieure (95%)	Borne supérieure (95%)	Groupes		
APR1	10,159	0,560	9,033	11,284	A		
SDH	8,193	0,560	7,067	9,319		B	
APR2	7,779	0,560	6,653	8,905		B	
ADH	4,525	0,560	3,400	5,651			C

**ANNEXE 12.** Analyse du modèle (Type I SS) pour l'activité spécifique CAT des six génotypes.

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F	signification
variété	5	317,573	63,515	11,941	<b>&lt; 0,0001</b>	****
traitement	3	579,362	193,121	36,306	<b>&lt; 0,0001</b>	****
variété*traitement	15	459,004	30,600	5,753	<b>&lt; 0,0001</b>	****

**ANNEXE 13.** Analyse du modèle (Type I SS) pour l'activité spécifique POD des six génotypes.

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F	signification
variété	5	125,999	25,200	5,566	<b>0,000</b>	***
traitement	3	214,596	71,532	15,800	<b>&lt; 0,0001</b>	****
variété*traitement	15	1137,190	75,813	16,745	<b>&lt; 0,0001</b>	****

**ANNEXE 14.** Analyse du modèle (Type I SS) pour l'activité spécifique APX des six génotypes.

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F	signification
variété	5	176,121	35,224	11,454	<b>&lt; 0,0001</b>	****
traitement	3	2528,696	842,899	274,083	<b>&lt; 0,0001</b>	****
variété*traitement	15	706,794	47,120	15,322	<b>&lt; 0,0001</b>	****

**ANNEXE 15.** Analyse du modèle (Type I SS) de la concentration protéique des six génotypes.

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F	signification
variété	5	0,010	0,002	18,397	<b>&lt; 0,0001</b>	****
traitement	3	0,001	0,000	4,236	<b>0,010</b>	***
variété*traitement	15	0,006	0,000	3,820	<b>0,000</b>	***

# ***RÉSUMÉS***



## ملخص

الغرض من هذه الدراسة هو تقييم تأثير الإجهاد المائي الناتج عن عدم الري لمدة عشرين (20) يوماً المطبق على اثنين من الأنماط الجينية للقمح الصلب : (GGR) و Haurani ؛ نمطين من القمح اللين : (FA) و Mexipak ونمطين من الشعير: Manel و Saida 183 ومراقبة تأثير هذا الإجهاد المتحكم به بعد 24 ساعة (APR1) وأسبوع واحد (APR2) ، بعد عودة الري.

تمت إجراء تجربة أولى بغاية مقارنة العلاقة بين البرولين والكلوروفيل ، حيث يؤدي تطبيق الإجهاد المائي طويل الأمد إلى تراكم محتوى البرولين في أوراق كلا النوعين المختبرين مقارنة مع شواهدهما. مع ذلك يكون هذا التراكم لصالح جنس *Triticum* على حساب جنس *Hordeum* مع تنوع ملحوظ بين عديد الأصناف. أما بالنسبة لتركيب الكلوروفيل الكلي للأعضاء المدروسة ، فإنه يتطور في نمط غير متنسق ما يؤدي إلى عدم اتضاح اتجاه إرشادي للحكم على المعاملات المائية المختلفة. بعد إعادة الري ، لوحظ انخفاض تدريجي في محتوى البرولين خلال التعاملين (APR1 و APR2) ، وخاصة عند الشعير مع ثبات في محتوى الكلوروفيل.

تجربة ثانية تم القيام بها على نفس الأنماط الجينية باستخدام نفس العلاجات المائية ، لكن هذه المرة لتحديد تأثير الإجهاد التأكسدي الناتج عن الجفاف و نقص الماء على عملية الأيض المضادة للأكسدة. كنا مهتمين بشكل خاص بنشاط ديسموتاز الفائق للأكسدة (SOD) ، محتوى فوق أكسدة الليبيدات (MDA) ، الكاتالاز (CAT) ، محتوى البيروكسيداز (POD) ، كذلك بيروكسيداز الأسكوربات (APX) ، ومحتوى البروتينات ، بهدف تحديد خصائص الأصناف وفقاً لآليات دفاعها ضد آثار الجذور الحرة الناتجة عن الإجهاد المائي، بشكل أكثر دقة خلال أهم المراحل والأكثر تأثراً بهذا الإجهاد : (مرحلة الإنبال) وتقييم مفعول النظام التأكسدي الدفاعي (مؤشرات الأكسدة و أنشطة الإنزيمات المضادة للأكسدة) على تخليق وهدم البرولين من أجل تحديد العناصر و المسارات المعنية التي قد تساهم في هذه العملية ، وتقييم تأثير هذا الإجهاد على تخليق هذا المركب منذ الجزينات التمهيدية ومصيرها بعد عودة السقي.

**الكلمات المفتاحية :** القمح (*Triticum*) ، الشعير (*Hordeum*) ، الإجهاد المائي ، البرولين ، الكلوروفيل ، الإجهاد التأكسدي ، الإنزيمات.

## Abstract

The objective of this work consists in evaluating the effect of a hydrous deficit created using a restriction of irrigation for a period of twenty (20) days on two durum wheat genotypes (*Triticum durum* Desf.): Gamgoum Reklam (GGR) and Haurani; two genotypes of common wheat (*Triticum aestivum* L.): Florence Aurore 8193 (FA) and Mexipak and two genotypes of barley (*Hordeum vulgare* L.): Manel and Saida 183 and to follow the impact of this controlled stress after 24 hours (APR1) and one week (APR2), following the return of watering.

A first experiment is carried out in order to compare the relation between Proline and chlorophyll, the application of prolonged hydric stress causes an accumulation of the content of proline in the leaves of the two kinds tested compared to that of their witnesses. However, this accumulation is in favor of the *Triticum* kind beside the *Hordeum* kind with a remarkable diversity within the different varieties. As for the total chlorophyll composition of the organs studied, it evolves in a sawtooth pattern that does not lead to any indicative trend during the various treatments. After rehydration, there is a progressive decrease in proline content (APR1 and APR2), particularly at the two barley genotypes, and any change concerning the chlorophyll content.

One second experimentation is carried out on the same genotypes with the same hydric treatments but this time to determine the influence of the oxydative stress produced by the dryness on the antioxydant metabolism. We were particularly interested in the activity of the superoxyde dismutase (SOD), malonedialdéhydes (MDA) content, catalase (CAT), peroxidases content (POD), as well as the ascorbate peroxidases (APX), and the content of proteins, aiming to characterize varieties according to their defense mechanisms against the effects of free radicals induced by water stress more precisely during the most critical stage and more affected by this Lack (heading stage) and to evaluate the impact of the oxydative defensive system (Indicators of oxidation and antioxidant enzymes activities) on the synthesis and the degradation of the proline in order to identify the elements of the signaling pathways involved, and to evaluate the effect of this stress on the synthesis of this compound since the precursor molecules and its fate after the return of watering.

**Key words:** Wheat (*Triticum*), Barley (*Hordeum*), hydrous stress, Proline, Chlorophyll, Oxidative stress, Enzymes.

## Résumé

L'objectif de ce travail consiste à évaluer l'effet d'un déficit hydrique créé en utilisant une restriction d'irrigation pendant une période de vingt jours (20j) sur deux génotypes de blé dur (*Triticum durum* Desf.) : Gamgoum Rekham (GGR) et Haurani ; deux génotypes de blé tendre (*Triticum aestivum* L.) : Florence aurore 8193 (FA) et Mexipak et deux génotypes d'orge (*Hordeum vulgare* L.) : Manel et Saïda 183 et de suivre l'impact de ce stress contrôlé après 24 heures (APR1) et une semaine (APR2) , suite au retour de l'arrosage.

Une première expérience est réalisée afin de comparer la relation entre Proline et chlorophylle, l'application d'un stress hydrique prolongé provoque une accumulation de la teneur en proline dans les feuilles des deux genres expérimentés par rapport à celle des témoins. Cependant, cette accumulation est en faveur du genre *Triticum* à côté du genre *Hordeum* avec une diversité remarquable au sein des différentes variétés. Quant à la composition totale en chlorophylle des organes étudiés, elle évolue en dents de scie n'entraînant aucune tendance indicative lors des différents traitements. Après réhydratation, il est observé une diminution progressive de la teneur en proline (APR1 et APR2), particulièrement chez les deux génotypes d'orge, et aucun changement concernant les teneurs en chlorophylle.

Une seconde expérimentation est menée sur les mêmes génotypes avec les mêmes traitements hydriques mais cette fois pour déterminer l'influence du stress oxydatif produit par la sécheresse sur le métabolisme antioxydant. Nous nous sommes intéressés particulièrement à l'activité du superoxyde dismutase (SOD), la teneur en malonedialdéhydes (MDA), la catalase (CAT), la teneur en peroxydases (POD), ainsi que les ascorbate peroxydases (APX), et la teneur en protéines, visant à caractériser les variétés selon leurs mécanismes de défense contre les effets des radicaux libres induits par la contrainte hydrique plus précisément au cours du stade le plus critique et le plus touché par ce déficit (Épiaison) et d'évaluer l'impact du système défensif oxydatif (Indicateurs d'oxydation et activités des enzymes antioxydantes) sur la synthèse et la dégradation de la proline afin d'identifier les éléments des voies de signalisation impliquées, et à évaluer l'effet de ce stress sur la synthèse de ce composé depuis les molécules précurseurs et son devenir après retour de l'arrosage.

**Mots clés :** Blé (*Triticum*), orge (*Hordeum*), stress hydrique, Proline, chlorophylle, Stress oxydatif, enzymes.

# ***PUBLICATION***

## **Y A-T-II Une Relation Entre Teneur En Chlorophylle Et Accumulation De La Proline Chez Les Céréales À Paille Sous Déficit Hydrique?**

*Merabta Sarra (PhD Student)*

*Zerafa Chafia (PhD Student)*

*Benlaribi Mostefa (Prof.)*

Laboratoire de Développement et Valorisation des Ressources  
Phytogénétiques, Université des Frères Mentouri Constantine 1, Algérie

Doi: 10.19044/esj.2018.v14n15p234 [URL:http://dx.doi.org/10.19044/esj.2018.v14n15p234](http://dx.doi.org/10.19044/esj.2018.v14n15p234)

---

### **Abstract**

This paper focuses on the relationship between two genotypes of durum wheat (*Triticum durum* Desf.): Gamgoum Rekhama (GGR) and Haurani; two genotypes of common wheat (*Triticum aestivum* L.): Florence aurore 8193 (FA) and Mexipak; and two genotypes of barley (*Hordeum vulgare* L.): Manel and Saïda 183. These genotypes were subjected to a water deficit during a period of twenty days at the heading stage. The proline content and the chlorophyll content are determined on the standard leaves both on the control and on the sample subjected to water stress after twenty days and after one and two weeks, following the return of watering. Despite the fact that these varieties are cultivated under the same conditions on the Algerian highlands, their reactions to the test conditions are very different. As a matter of fact, GGR and FA recorded very high levels of proline at the end of the stress. This, however, was at the moment when the two barley genotypes presented relatively low values for the two studied parameters. After the return of watering, the proline contents at the various genotypes returned gradually to those of the controls. The GGR genotype recovers more quickly than the others. As for the chlorophyll content, it evolves, unevenly, in the course of the test, showing no evolutionary indication in relation to the proline.

---

**Keywords:** Hydrous deficit, heading, proline, chlorophyll, return of watering

---

### **Résumé**

L'étude que nous proposons a porté sur deux génotypes de blé dur (*Triticum durum* Desf.) : Gamgoum Rekhama (GGR) et Haurani ; deux génotypes de blé tendre (*Triticum aestivum* L.) : Florence aurore 8193 (FA) et Mexipak et deux génotypes d'orge (*Hordeum vulgare* L.) : Manel et Saïda

183. Ces génotypes sont soumis à un déficit hydrique pendant une période de vingt jours (20j) au stade d'épiaison. La teneur en proline et le contenu en chlorophylle sont déterminés sur les feuilles étendards aussi bien sur le témoin que sur l'échantillon soumis à la contrainte hydrique après vingt jours et après une et deux semaines, suite au retour de l'arrosage. En dépit du fait que ces variétés sont cultivées dans les mêmes conditions sur les hauts plateaux algériens, leurs réactions aux conditions d'essai s'avèrent très différentes. En effet, GGR et FA enregistrent des teneurs en proline très élevées à l'issue du stress, au moment où les deux génotypes d'orge présentent des valeurs relativement faibles pour les deux paramètres étudiés. Après retour de l'arrosage les teneurs en proline chez les différents génotypes reviennent progressivement vers celles des témoins ; le génotype GGR récupère plus rapidement que les autres. Quant à la teneur en chlorophylle, elle évolue, en dents de scie, au cours de l'essai, ne présentant pas d'indication évolutive par rapport à la proline.

---

**Mots-clés** : Déficit hydrique, épiaison, proline, chlorophylle, retour de l'arrosage

### **Introduction**

En conditions pluviales, la culture des céréales pratiquée sur de grandes étendues au même titre que les autres grandes cultures est exposée annuellement soit à l'insuffisance des précipitations, soit à la mauvaise répartition de ces précipitations dans le temps le long du cycle biologique de la plante (Benlaribi *et al.*, 2014). La sécheresse en Algérie et dans d'autres pays du Maghreb est largement reconnue comme le premier facteur limitant de la production agricole et constitue une contrainte permanente. La lutte contre ce facteur climatique doit être envisagée à travers une approche multidisciplinaire (Monneveux, 1991 ; Benlaribi & Monneveux, 1988) qui intègre essentiellement, dans ce cas , l'irrigation d'appoint, les techniques culturales et la sélection d'un matériel végétal adapté.

Le déficit hydrique provoque chez les plantes la mise en place d'un état de régulation grâce à une accumulation de composés osmo-régulateurs. Parmi ces derniers les acides aminés libres peuvent jouer un rôle significatif (Jones *et al.*, 1980) à côté des ions minéraux  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  (Salsac & Monneveux, 1991).

L'accumulation de la proline, acide iminé, notamment dans les feuilles de plantes sous contrainte hydrique, est décrite depuis fort longtemps déjà (Palfi *et al.*, 1973 ; Hanson *et al.*, 1977 ; Tan & Halloran, 1982). En effet, de nombreux travaux ont révélé une augmentation de la quantité de proline dans les tissus foliaires par rapport au contenu dans les échantillons témoins (Benlaribi & Monneveux, 1988 ; Zerafa, 2006 ; et Benlaribi *et al.*, 2014).

Cette molécule est considérée comme un indicateur aussi bien des stress biotiques (Mohanty & Sridhar, 1982) que des stress provoqués par des contraintes abiotiques tel que la salinité, le déficit hydrique (Hubac *et al.*, 1980). Étant de l'ordre de 2  $\mu\text{moles.mg}^{-1}$  MS (masse de substance sèche) dans les conditions d'alimentation hydrique non limitante, la teneur en proline peut atteindre des valeurs beaucoup plus élevées de l'ordre de 45  $\mu\text{moles.mg}^{-1}$  MS, soit près de 25 fois la valeur initiale voire d'avantage selon le degré de sévérité du déficit hydrique développé (Benlaribi & Chaib, 1995).

L'augmentation de la teneur foliaire en proline libre a été considérée pendant longtemps comme le résultat du seul phénomène de protéolyse. Mc Michael et Elmore (1977) observent toutefois une réduction de la teneur en acide glutamique concomitante de l'augmentation de la teneur en proline et suggèrent que l'accumulation de la proline est due à une synthèse accrue à partir de l'acide glutamique. Alors que pour (Hubac *et al.*, 1980) l'accumulation résulterait d'un double phénomène d'hydrolyse et de synthèse. Ainsi, ce métabolite primaire dont la synthèse et la régulation sont encore peu maîtrisées est induit sous l'effet de contraintes de l'environnement de culture et notamment sous l'effet d'une alimentation hydrique contraignante.

Il est à remarquer que Hubac (1967) et le Saint (1969) ont indiqué que la proline exogène appliquée sur des plantules entraîne une augmentation de leur résistance à la sécheresse. Par ailleurs, Tahri *et al.* (1997) étudiant l'effet d'un stress osmotique au PEG sur trois variétés de blé dur obtient une accumulation de la proline dans les feuilles. En revanche, ils ont enregistré une diminution de leurs teneurs en pigments chlorophylliens expliquant le phénomène par une baisse de leur activité glutamine synthétase, enzyme impliquée dans la biosynthèse du glutamate, précurseur commun à la proline (Weinman & Mehul, 2004) et aux pigments chlorophylliens.

Le rapport chlorophylle (a/b) est un bon indicateur du seuil de tolérance au stress hydrique, la chlorophylle constituant la base des systèmes photosynthétiques par le captage de l'énergie solaire. De plus, elle contient par le biais des chloroplastes des enzymes qui sont des catalyseurs et qui rendent ainsi possible les réactions chimiques des différentes étapes de la photosynthèse (Hopkins, 2003).

La tolérance remarquable de l'appareil photosynthétique à la déshydratation suggère que la survie des plantes en manque d'eau est en partie due à l'entretien de la capacité photosynthétique des feuilles, permettant le rétablissement rapide des plantes suite à une période de déficit hydrique (Bouras, 2001).

L'objectif de la présente étude est de contribuer à préciser la nature de la relation, s'il y en a une, entre les deux paramètres étudiés, à savoir la proline et la chlorophylle.

## Matériels et méthodes

### Matériel végétal

L'étude a porté sur six variétés de céréales à consommation humaine d'origine locale et d'introduction : Gamgoum Rekham (GGR) et Haurani de blé dur (*Triticum durum* Desf), Florence aurore 8193 (FA) et Mexipak de blé tendre (*Triticum aestivum* L.) et Manel et Saïda 183 d'orge (*Hordeum vulgare* L.) (Tableau I).

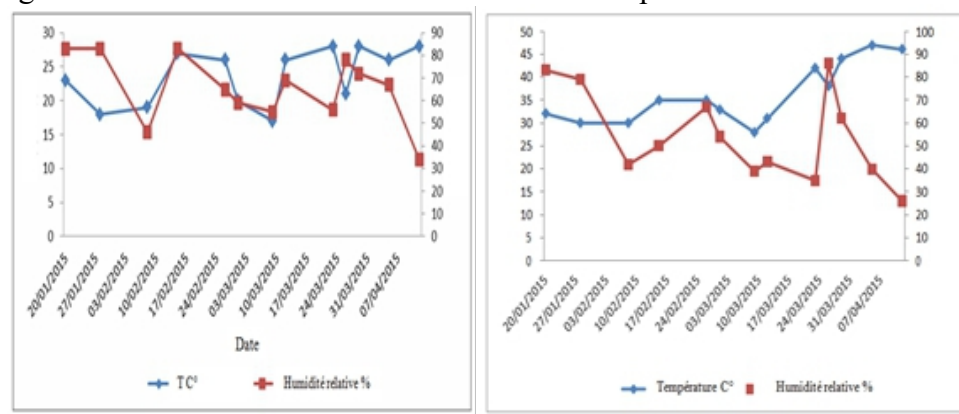
**Tableau I.** Génotypes étudiés et leur origine.

Genre	Nom du génotype	Son origine
Blé dur	Gamgoum Rekham (GGR)	I.T.G.C Tiaret Algérie
	Haurani	Syrie/Liban
Blé tendre	Florence aurore 8193(FA).	Tunisie-Algérie.
	Mexipak.	Mexique, Pakistan1973
Orge	Manel.	Tunisie.
	Saïda 183.	Algérie.

### Conditions expérimentales

Le semis est réalisé manuellement dans des pots de 19×26×18 cm contenant un sol agricole (argilo-limoneux), caractérisé par une capacité au champ relativement élevée (41%). La densité de semis est de 14 grains / pot.

Les pots sont installés dans une serre vitrée selon un dispositif en bloc de Fisher randomisé à raison de trois répétitions pour chaque variété sous les conditions semi-contrôlées suivantes : (photopériode 15h, éclairage naturel, température 9°- 15°C la nuit, 17°- 28°C le matin et 20°- 45° l'après-midi, humidité relative 60%) comme indiqué sur les deux graphiques de la (Figure 1). Le développement des plantules se poursuit et l'arrosage est entrepris régulièrement à raison de 300 mm d'eau trois fois par semaine.



Le matin.

L'après-midi.

**Figure 1.** Variation de la température ambiante (TC°) et de l'humidité relative % au niveau de la serre durant l'expérience.



## **Application du stress hydrique**

La première répétition des six génotypes utilisés est arrosée normalement et les plantes sont considérées comme témoins sans déficit hydrique (SDH) à 80% de la capacité au champ (CC) durant tout le long de notre étude, cependant les deux rangées restantes ont subi un stress (restriction) hydrique de 20 jours par arrêt d'arrosage durant la phase d'épiaison du cycle de développement (avec déficit hydrique ADH). Des échantillons foliaires (feuilles étendards) des plantes témoins et stressées sont utilisés pour des analyses au laboratoire à raison de trois répétitions par variété pour les deux traitements (SDH) et (ADH).

Après les analyses ces mêmes deux rangées (2 et 3) seront ré-arrosées de nouveau avec la quantité habituelle d'eau, et les échantillons sont prélevés après : 24h (après retour de l'arrosage 1, APR1) et après une semaine (après retour de l'arrosage 2, APR2) pour l'étude du comportement biochimique après la réhydratation comme pour les deux traitements précédent (SDH et ADH).

## **Méthodes de mesures**

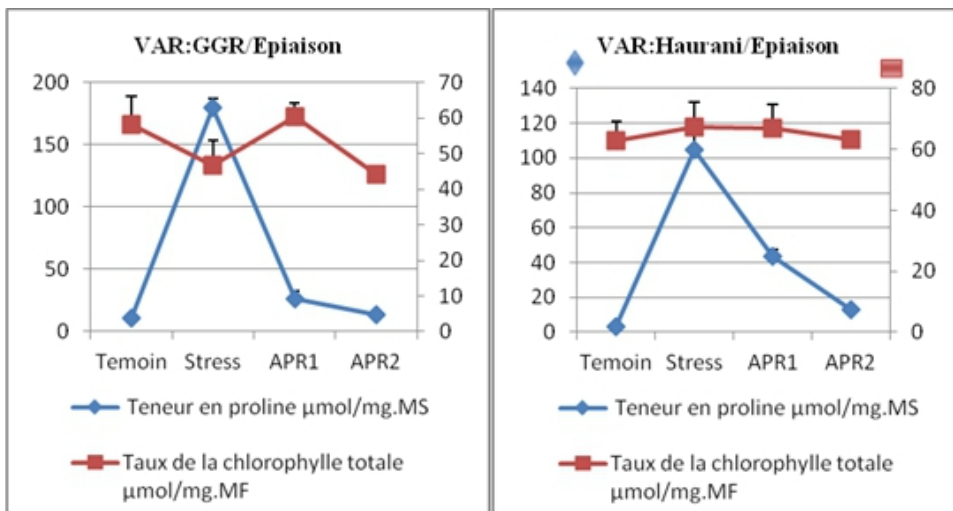
\*La proline facilement oxydée par la ninhydrine (Larbier & Leclercq, 1992) est dosée sur le tiers médian de la feuille étendard par la méthode de Troll et Lindsley (1955) modifiée par Dreier et Goring (1974). Pour la séparation des phases, le benzène toxique a été remplacé par le toluène conformément aux travaux de Hanson *et al.* (1977). La proline est alors évaluée par spectrophotométrie sous une longueur d'onde de 528 nm. Le poids de la matière sèche des différents échantillons est déterminé après passage à l'étuve (80°C pendant 24 heures) des résidus de l'extraction.

\*La chlorophylle a et b est déterminée grâce à la méthode de Mac Kiney (1941) et Arnon (1949) simplifiée par (Francis *et al.*, 1970) qui utilise une solution d'acétone et d'éthanol. La densité optique est déterminée à 663nm pour la chlorophylle a et à 645 pour la chlorophylle b.

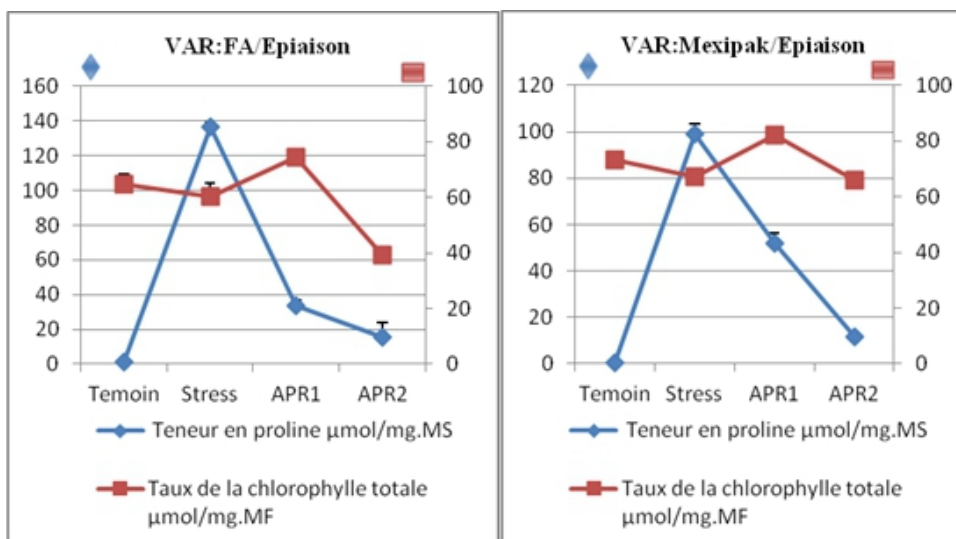
\*Les résultats obtenus au cours de cette expérimentation correspondent à la moyenne de trois répétitions et ils sont testés par une analyse de la variance à deux facteurs, réalisée à l'aide du logiciel XL-Stat. Le test de Newman-Keuls a permis d'exprimer les moyennes et de donner le seuil de signification.

## **Résultats et Discussion**

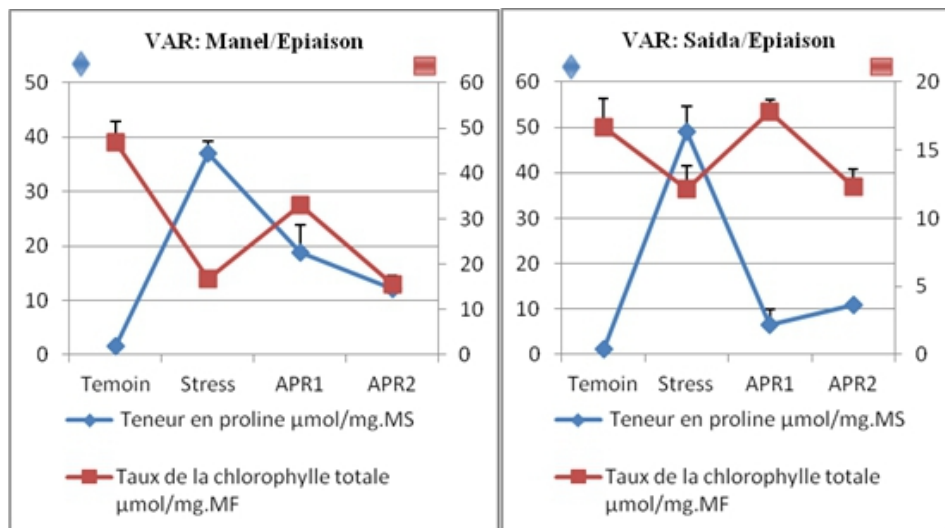
Les teneurs en proline et les variations du contenu en chlorophylle totale sont représentées dans les figures 2, 3 et 4 suivantes où l'on peut observer une nette augmentation de la teneur en proline des échantillons stressés par rapport aux échantillons témoins chez les variétés des trois espèces étudiées.



**Figure 2.** Évolution de la teneur en proline et du contenu en chlorophylle chez les deux variétés de blé dur.



**Figure 3.** Évolution de la teneur en proline et du contenu en chlorophylle chez les deux variétés de blé tendre.



**Figure 4.** Évolution de la teneur en proline et du contenu en chlorophylle chez les deux variétés d’orge.

En ce qui concerne l’accumulation de la proline (Tableau II), l’observation globale des résultats dégagés par les trois espèces lors du déficit hydrique place la variété de blé dur GGR en premier, suivie par la variété de blé tendre FA ; arrivent ensuite les variétés Haurani et Mexipak et enfin les deux variétés d’orge Manel et Saïda 183.

On remarque une diversité dans le comportement par rapport à l’accumulation de ce composé aminé aussi bien lors des ADH qu’au moment de la reprise de l’arrosage.

**Tableau II.** Moyennes de la teneur en proline dans les quatre traitements hydriques.

		Traitements (μmol/mg.MS)			
		Variété	SDH	ADH	APR1
Blé dur	GGR	11,03 ± 0,50	180,06 ± 7,10	26,14 ± 6,70	13,80 ± 2,06
	Haurani	3,29 ± 0,23	104,79 ± 9,56	43,53 ± 4,08	13,29 ± 0,80
Blé tendre	FA	1,00 ± 0,60	136,67 ± 2,38	33,44 ± 3,73	15,29 ± 8,45
	Mexipak	0,59 ± 0,27	98,99 ± 4,38	51,86 ± 4,65	11,58 ± 1,23
Orge	Manel	1,52 ± 0,26	37,04 ± 2,30	18,85 ± 4,97	12,19 ± 2,46
	Saïda 183	1,11 ± 0,38	49,15 ± 5,45	6,49 ± 3,41	10,90 ± 0,57

La résorption de ce composé aminé après le 1<sup>er</sup> réarrosage est en faveur de la variété d’orge Saïda 183 et Manel ; arrive ensuite la variété GGR suivie par FA, Haurani et enfin Mexipak (Figure 5).

Après le deuxième réarrosage (APR2) tous les génotypes ont enregistré des valeurs faibles et voisines. La variété Saïda 183 a présenté la valeur la plus basse et FA la plus haute.

Cependant, ces teneurs demeurent encore relativement élevées par rapport à celles des témoins (SDH), à l'exception de GGR qui a enregistré une valeur témoin élevée et inexplicable pour le moment (Annexe I).

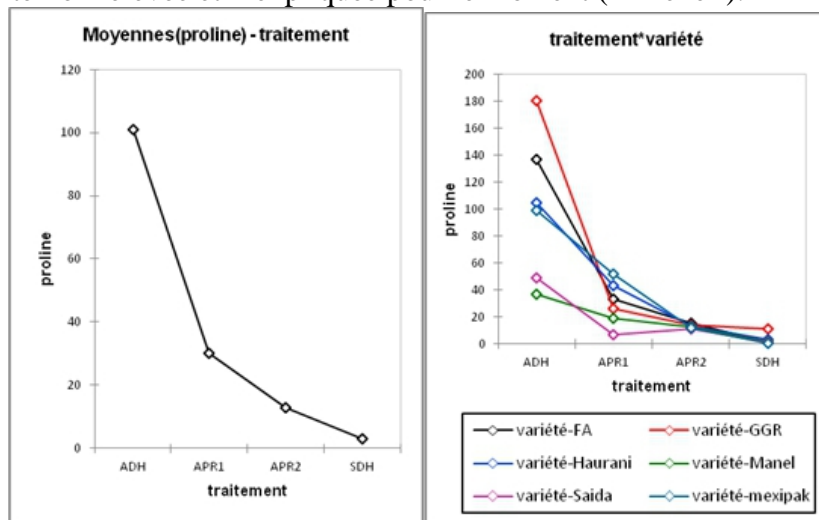


Figure 5. Courbe des moyennes des différents traitements pour les six génotypes.

**Annexe I.** Synthèse des comparaisons multiples par paires pour variété : Newman-Keuls (SNK) (Proline).

Modalité	Moyennes estimées(proline)	Groupes
GGR	57,759	A
FA	46,599	B
Haurani	41,225	C
Mexipak	40,753	C
Manel	17,401	D
Saïda	16,911	D

Les valeurs ainsi relevées dans l'étude sont en conformité avec celles présentées par de nombreux auteurs tels Chaïb et Benlaribi (2006), Rejaimia (2006), Zerafa (2006) et Benlaribi *et al.* (2014).

En effet, la plupart de ces auteurs ont constaté que l'accumulation de la proline dans les tissus foliaires des *Triticum* ne commence que lorsque la teneur en eau du sol avoisine 70 % de la capacité au champ (C.C). Ce niveau d'humidité correspond approximativement à un potentiel hydrique foliaire de -10 à -12 bars et qu'en dessus de 70% de la C.C. le contenu en proline reste voisin de 2 µmole/mg.MS (Benlaribi & Monneveux, 1988).

Les teneurs en chlorophylle enregistrées dégagent deux tendances distinctes de génotypes:

- les géotypes de blé dont les valeurs moyennes pour les quatre (04) traitements vont de 52,08 (GGR) à 72,10 μmoles/mg de matière fraîche (Mexipak).

- les deux géotypes d’orge dont les valeurs sont nettement inférieures et égales à 28,08 μmoles/mg.MF chez Manel et 14,71 chez Saïda 183 (Figure 6, Annexe II).

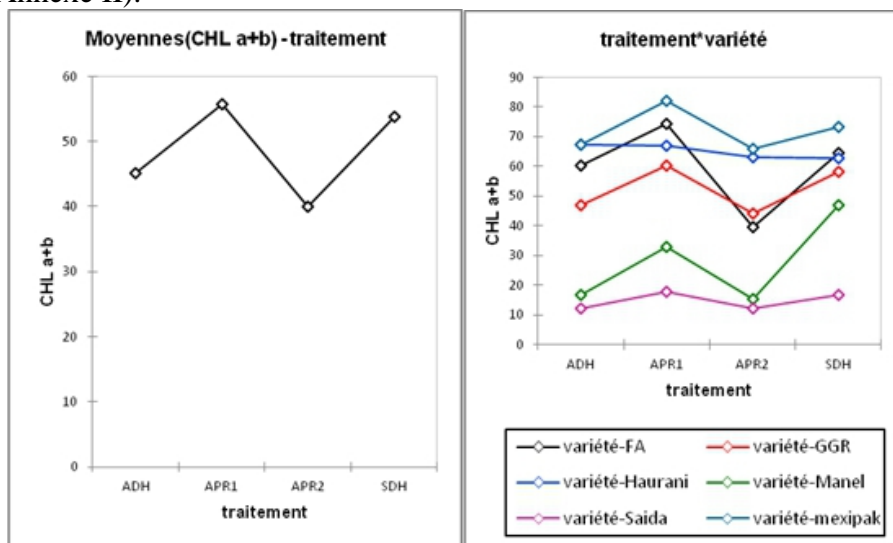


Figure 6. Courbe des moyennes des différents traitements pour les six géotypes.

**Annexe II.** Synthèse des comparaisons multiples par paires pour chaque variété : Newman-Keuls (SNK) (Chlorophylle).

Modalité	Moyennes estimées (CHL a+b)	Groupes
Mexipak	72,108	A
Haurani	65,008	B
FA	59,632	C
GGR	52,327	D
Manel	28,007	E
Saïda	14,706	F

Ces valeurs de chlorophylle ne semblent pas obéir à l’évolution de la teneur en proline au cours du déficit hydrique et lors de la reprise de l’arrosage (Tableau III).

**Tableau III.** Moyennes du contenu en chlorophylle totale dans les quatre traitements hydriques.

	Variété	Traitements (μmol/mg.MF)			
		SDH	ADH	APR1	APR2
Blé dur	GGR	58,17 ± 7,87	46,75 ± 7,07	60,24 ± 4,00	44,15 ± 2,17
	Haurani	62,78 ± 6,36	67,29 ± 8,31	66,93 ± 7,84	63,04 ± 1,79
	FA	64,62 ± 3,70	60,28 ± 5,00	74,24 ± 2,71	39,38 ± 2,38

Blé tendre					
	Mexipak	73,20 ± 2,86	67,32 ± 1,34	82,07 ± 0,84	65,84 ± 1,84
Orge	Manel	46,91 ± 4,63	16,71 ± 1,29	32,94 ± 0,77	15,47 ± 1,46
	Saïda 183	16,68 ± 2,12	12,11 ± 1,73	17,78 ± 0,95	12,26 ± 1,32

De cette manière, nos résultats ne suggèrent aucune relation entre l'évolution de la proline et celle de la chlorophylle pendant la période d'essai.

Ils sont donc en désaccord avec les conclusions avancées (présentées) par Tahri *et al.*, (1997). Par conséquent, les deux voies de synthèse de ces deux composés (Proline et chlorophylle) ne semblent donc pas être connectées entre-elles pour être en concurrence pour leur prétendu précurseur commun le glutamate, comme il a été rapporté par Bengston *et al.* (1978) et Reddy et Veeranjanyulu (1991).

### Conclusion

L'application d'un stress hydrique prolongé provoque une accumulation de la teneur en proline dans les feuilles des deux genres expérimentés par rapport à celle des témoins. Cependant, cette accumulation est en faveur du genre *Triticum* à côté du genre *Hordeum* avec une diversité remarquable au sein des différentes variétés.

Quant à la composition totale en chlorophylle des organes étudiés, elle évolue en dents de scie n'entraînant aucune tendance indicative lors des différents traitements.

Après le retour de l'arrosage (20 j après), il est observé une diminution progressive de la teneur en proline (APR1 et APR2), particulièrement chez les deux génotypes d'orge, et aucun changement concernant les teneurs en chlorophylle.

Les résultats auxquels nous sommes parvenus ne suggèrent donc aucune relation entre l'évolution de la proline et celle de la chlorophylle comme il est proposé par certains auteurs.

### References:

1. Arnon, DI. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. *Plant. Physiol*, 24: 1-15.
2. Benlaribi, M., Merghem, R., Zarafa, C., & Chaib, G. (2014). Une molécule, un métabolite primaire de contraintes mésologiques : la proline. *Revue des régions arides-Numéro spécial- n° 35* : 1129-1138.
3. Benlaribi, M. & Chaib, G. (1995). Is proline accumulation a character of tolerance to drought? *Congrès inter-drought, Montpellier . proceeding, INRA, W-5.*
4. Benlaribi, M. & Monneveux, PH. (1988). Etude comparée du

- comportement, en situation de déficit hydrique, de deux variétés algériennes de blé dur (*Triticum durum* Desf.) adaptées à la sécheresse. C.R.Acad.Agric.Fr.,74(5),73-83.
5. Bengston, C., Klockare, B., Klockare, R., Larsson, S., & Sundquist, C. (1978). The after effect of water stress on chlorophyll formation during greening and the level of abscisic acid and proline in dark grown wheat seedlings. *Plant Physiol.*, 43, pp. 205-212.
  6. Bouras, F.Z. (2001). Effet du stress hydrique sur les composantes du rendement de quelques génotypes de blé dur. Thèse de magister I.N.A. El harrach.84 :15-23.
  7. Chaib, G. (1998). Teneur en proline chez les différents organes de blé dur (*Triticum durum desf*) : essai d'explication des conditions d'accumulation sous manque d'eau. Thèse de Magister. Université de Constantine, Algérie.120p.
  8. Chaib, G. & Benlaribi, M. (2006). Proline Accumulation in durum wheat (*Triticum durum* Desf.) under water deficit. *Arab. Univ. J. Agric. Sci., Ain Schams Univ ,Cairo*,14(1),235-247.
  9. Dreier, W. & Goring, M. (1974). Der einfluss hoher Salzkonzèntationen auf Verschiedene physiologische parameter Von Maiswurzeln. *Wiss. Z. der H.U. Berlin, Nath. Naturwiss r.*, 23:641-644.
  10. Francis, GW., Hertzberg, S., Andersen, K., & Liaaen-Jensen, S. (1970) New carotenoid glycosides from *Oscillatoria limosa*. *Phytochemistry* 9:629–635
  11. Hanson, AD., Nelsen, CE., & Everson, EH. (1977). Evaluation of free proline accumulation as an index of drought resistance using two contrasting barley cultivars. *Crop Science*, 17,720-726.
  12. Hopkins, W.G. (2003). *Physiologie végétale*, traduction de la 2<sup>ème</sup> édition américaine, De Boeck Université, Bioénergétique et réactions photochimiques de la photosynthèse, 9, 163 -186
  13. Hubac, C., Vieira Da, Silva, J. (1980). Indicateurs métaboliques de contraintes mésologiques. *Physiol veg.* 18: 45-54.
  14. Hubac, C. (1967). C. R. Hebd. Seances Acad. Sci., Ser.D264: 1286-1289.
  15. Jones, MM., Osmond, CB., & Turner, NC. (1980). Accumulation of solutes in sorghum and sunflower leaves in response to water deficits. *Australian Journal of Plant Physiology* 7: 193-205.
  16. Larbier, M. & Leclercq, B. (1992). Nutrition et alimentation des volailles. Edition QUAE. Inra 358 : 93-107.
  17. Le Saint, AM. (1969). C.R.Acad.Sci. Paris 269:1423-1426.
  18. Mac Kinney, G. (1941). Absorption of light by chlorophyll solution. *J. Biol. Chem.* 140 : 315-322.

19. Malki, S., Chaib, G., & Benlaribi, M. (2002). Contribution à l'étude de la biodiversité du blé (*Triticum* sp) par le test de la proline. Séminaire international : biologie et environnement Constantine le 20.21 et 22 Octobre .Algérie 11-13.
20. Mc Michael, BH. & Elmore, CD. (1977). Proline accumulation in water -stressed cotton leaves. *Crop Sci.*, 17: 905-908.
21. Mohanty, SK. & Sridhar, R. (1982). Physiology of ricetungro virus disease: proline accumulation due to infection. *Physiol. Plant*, 56:88-93.
22. Monneveux, PH. (1991). Quelle stratégie pour l'amélioration génétique de la tolérance au déficit hydrique des céréales d'hiver. In :Chalbi et Demarley Y.Ed. L'amélioration des plantes pour l'adaptation aux milieux arides. Ed.AUPELF- UREF- JhonLibbey.INSA- INRA ,165-186.
23. Palfi, G., Bito, M., & Palfi, Z. (1973). Free proline and water deficit in plant tissues. *Fiziol. Rast.*,20,189-193.
24. Redjamia, L. (2006). Accumulation de la proline comme indice moléculaire de (*Triticum durum* Desf.). Thèse magister, Université Constantine, 82p.
25. Reddy, P.S. & Veeranjanyulu, K. (1991). Proline metabolism in senescing leaves of horsgram (*Macrotyloma uniflorum*Lam.). *J. Plant. Physiol.*, 137, pp. 381-383.
26. Salsac, L. & Monneveux, PH. (1991). Relation entre la nutrition minérale et la tolérance au déficit hydrique, 49-66. In. Acevedo E. Conesa A. P. Monneveux Ph. Srivastava J. P. (Eds) Physiology-breeding of winter cereals for stressed Mediterranean environment. Montpellier, France, 3-6 July 1989.Colloques INRA N° 55.
27. Tahri, E., Belabed, A., & Sadki, K. (1997). Effet d'un stress osmotique sur l'accumulation de proline, de chlorophylle et des ARNm codant pour la glutamine synthétase chez trois variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.). *Bulletin de l'Institut Scientifique. Rebat.*21: 81 - 89 p.
28. Tan BH & Halloran GM (1982). Variation and correlations of proline accumulation in spring wheat. *Crop Science*, 22, 459-463.
29. Troll, W. & Lindsley, J. (1955). A photometric method for the determination of proline .*j.Biol.Chem.*, 215: 655-660.
30. Weinman, S. & Méhul, P. (2004). *Toute la biochimie. Sciences Sup: Sciences de la vie*, ISSN 1636-2217. Dunod, 452p.
31. Zerafa, C. (2006). L'accumulation de la proline en tant que test précoce d'adaptation au déficit hydrique et indicateur moléculaire de diversité chez *Triticum aestivum* L. Mémoire de Magister. Fac des sciences, S.N.V, université de Constantine,Algérie. 125p.



UNIVERSITE MENTOURI DE CONSTANTINE  
**FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE**  
**DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET ECOLOGIE VEGETALE**

**Nom :** Merabta  
**Prénom :** Sarra

**Date de soutenance :** 18 Décembre 2019

**Titre :** « L'accumulation de la proline sous déficit hydrique, synthèse et devenir après retour de l'arrosage chez les végétaux. Exemple des *Triticum* et *Hordeum* ».

**Résumé.**

L'objectif de ce travail consiste à évaluer l'effet d'un déficit hydrique crée en utilisant une restriction d'irrigation pendant une période de vingt jours (20j) sur deux génotypes de blé dur (*Triticum durum* Desf.) : Gamgoum Reklam (GGR) et Haurani ; deux génotypes de blé tendre (*Triticum aestivum* L.) : Florence aurore 8193 (FA) et Mexipak et deux génotypes d'orge (*Hordeum vulgare* L.) : Manel et Saïda 183 et de suivre l'impact de ce stress contrôlé après 24 heures (APR1) et une semaine (APR2) , suite au retour de l'arrosage.

Une première expérience est réalisée afin de comparer la relation entre Proline et chlorophylle, l'application d'un stress hydrique prolongé provoque une accumulation de la teneur en proline dans les feuilles des deux genres expérimentés par rapport à celle des témoins. Cependant, cette accumulation est en faveur du genre *Triticum* à côté du genre *Hordeum* avec une diversité remarquable au sein des différentes variétés. Quant à la composition totale en chlorophylle des organes étudiés, elle évolue en dents de scie n'entraînant aucune tendance indicative lors des différents traitements. Après réhydratation, il est observé une diminution progressive de la teneur en proline (APR1 et APR2), particulièrement chez les deux génotypes d'orge, et aucun changement concernant les teneurs en chlorophylle.

Une seconde expérimentation est menée sur les mêmes génotypes avec les mêmes traitements hydriques mais cette fois pour déterminer l'influence du stress oxydatif produit par la sécheresse sur le métabolisme antioxydant. Nous nous sommes intéressés particulièrement à l'activité du superoxyde dismutase (SOD), la teneur en malonedialdéhydes (MDA), la catalase (CAT), la teneur en peroxydases (POD), ainsi que les ascorbate peroxydases (APX), et la teneur en protéines, visant à caractériser les variétés selon leurs mécanismes de défense contre les effets des radicaux libres induits par la contrainte hydrique plus précisément au cours du stade le plus critique et le plus touché par ce déficit (Épiaison) et d'évaluer l'impact du système défensif oxydatif (Indicateurs d'oxydation et activités des enzymes antioxydantes) sur la synthèse et la dégradation de la proline afin d'identifier les éléments des voies de signalisation impliquées, et à évaluer l'effet de ce stress sur la synthèse de ce composé depuis les molécules précurseurs et son devenir après retour de l'arrosage.

**Mots clés :** Blé (*Triticum*), orge(*Hordeum*), stress hydrique, Proline, chlorophylle, Stress oxydatif, enzymes.

**Laboratoire de recherche :** Laboratoire du Développement et Valorisation des Ressources Phylogénétiques, Université Mentouri Constantine 1.

**Directeur de laboratoire :** Pr. Benlaribi Mostefa.