

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université 08 mai 1945 GUELMA
Faculté des sciences de la nature et de la vie et science de
la terre et de l'univers
Département de science de la nature et de la vie



Mémoire de master
Domaine : science de la nature et de la vie
Filière : biologie
Option : qualité de produit et sécurité alimentaire
Thème

Etude de l'effet de stress salin sur la qualité de trois
variétés de blé dur (waha, semito et vitron)

Présenté par :

AIDAOUI Hanane

MEGUELATENI Selwa

MOUASSE Nada

MEMBRE DE JURY :

Président : M. djekoune.M

maitre de conférences

Examineur : Mme. Slimani. A

maitre assistant

Encadreur : Melle. Souiki. L

maitre de conférences

Juin 2013

Sommaire

Introduction générale	
1. Matériel et méthode.....	14
1.1. Matériel.....	14
1.1.1. Matériel végétal	14
1.1.2. Dispositif expérimental.....	14
1.2. Méthodes d'analyses	14
1.2.1. Détermination des paramètres morphologiques	14
1.2.1.1. Pourcentage de germination (G%).....	14
1.2.1.2. La longueur des feuilles et des racinés (LF).....	14
1.2.2. Détermination des paramètres physiologiques.....	17
1.2.2.1. Détermine le poids frais des feuilles(PFF) et des racines (PFR)	17
1.2.3. Détermination des paramètres biochimiques.....	17
1.2.3.1. Dosage de la proline (Prol « µg/100mg MF »)	17
1.2.3.2. Dosage des sucres solubles (Suc) « µg/100mg MF ».....	19
1.2.3.3. Dosage des protéines (méthode de Bradford 1976).....	19
1.2.4. La chromatographie sur couche mince (CCM)	21
Préparation de la cuve à chromatographie.....	21
Préparation de la plaque à chromatographie.....	21
Dépôt de l'échantillon	24
Développement de la plaque.....	24
3. Résultat et discussion.....	26
Conclusion	

REMERCIEMENTS

Tout d'abord on remercie le bon dieu tout puissant de la bonne santé, de la volante et de la patience qu'il nous adonné au long de notre existence pour en arrive là.

On tient tout d'abord à exprimer notre très grande gratitude à Dr Souiki, Lynda. Pour nous avoir proposé le thème de ce travail et qui nous encadré d'une manière extraordinaire : pour son aide, sa patience son appui et ses conseils tout au long de cette recherche, qu'il soit assuré de notre reconnaissance et de notre respect attentif.

Nos remerciement vont à aux sembles de jury à M Djekoun d'avoir accepté de président le jury et à Mme Slimani, Atika d'avoir accepté d'examineur ce travail

Aussi, nos remerciements à tous chargés de cours de la promotion de qualité des produits et sécurité alimentaire 2013.

Enfin, nos remercie tous ceux qui ont apporté leur aide pour la réalisation de ce travail.

Introduction générale

Les céréales occupent à l'échelle mondiale une place primordiale dans le système agricole. Les céréales sont considérées comme une principale source de la nutrition humaine et animale [1] selon FAO, 2007 leur production arrive jusqu'à 2001.5 Mt. Parmi ces céréales, Le blé occupe la première place pour la production mondiale et la deuxième après le riz, comme source de nourriture pour les populations humaines, il assure 15% de ses besoins énergétiques (Bajji, 1999). Le blé est une céréale importante en terme de consommation intérieure dans de nombreux pays du monde. L'Algérie avant les années 1830, exporte son blé au Monde entier. Actuellement l'Algérie importe son blé et se trouve dépendante du marché international [3]. Par sa position de grand importateur de blé, l'Algérie achète annuellement plus de 5% de la production céréalière mondiale. Cette faiblesse de la production de blé en Algérie était toujours liée aux effets du stress hydrique qui se fait ressentir de manière très importante depuis la dernière décennie (Chaise et *al.*, 2005). La capacité d'évaluer quantitativement les performances des plantes cultivées subissant un stress hydrique est très importante au niveau des programmes de recherche qui visent la réhabilitation et l'amélioration de la production en région semi aride (INRA, 2000). La conséquence générale de la présence de sels dans les sols est une limitation de la croissance qui provoque une baisse de rendement. Dans les régions semi-arides, la concentration en sel de la solution du sol peut atteindre 100 mM, condition qui inhibe la croissance de la quasi-totalité des plantes cultivées pour des concentrations en sel plus fortes, même la germination peut devenir impossible. (Greenway, 1980).

Les céréales sont des espèces généralement cultivées pour leur grain, dont l'albumen amylicé, réduit en farine, est consommable par l'homme ou par les animaux domestiques. Les graines de céréales constituent, depuis toujours, la principal ressource alimentaire de l'Homme et de l'animal et possèdent un pouvoir nutritionnel important (Fig.1). Dans la plupart des cas, la production des céréales est assurée par une seule récolte dans l'année alors que la consommation est prolongée toute au long de l'année, d'où la nécessité du stockage. La plupart des céréales appartiennent à la famille des Graminées (ou Poacées). Ce sont : le blé, l'orge, l'avoine, le seigle, le maïs, le riz, le millet, le sorgho. Les unes appartiennent à la sous-famille des

Festucoïdées : blé, orge, avoine, seigle; les autres à la sous-famille des Panicoïdées : maïs, riz, sorgho, millet. Enfin, une céréale, le sarrasin appartient à une autre famille, celle des Polygonacées. (Bonnet, 1936).

Le blé vient en tête avec 227 millions d'hectares et 3 300 millions de quintaux. Le blé, le riz et le maïs deviennent les trois grandes céréales cultivées dans le monde. Mais on a assisté à un accroissement considérable de la culture de l'orge. La culture de l'avoine et celle du seigle sont au contraire en régression. Les principales régions productrices de céréales du globe, sont par ordre décroissant :

- Asie, 2,6 milliards de quintaux (riz principalement)
- Amérique du Nord et centrale, 2,5 milliards de quintaux (maïs et blé surtout);
- Europe, 1,9 milliard de quintaux (blé, orge, maïs);
- U.R.S.S., 1,6 milliard de quintaux (blé surtout).

Le blé dur est la céréale la plus employée dans l'alimentation de l'Homme et des animaux (Cheftel, 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). De plus en Afrique du Nord, on utilise aussi cette céréale pour la production de couscous et des pains traditionnels (la galette) (Feillet, 2000) (Fig. 2). Dans le monde, l'union européenne (principalement l'Italie, l'Espagne et la Grèce) est le plus grand producteur de blé dur, avec une récolte annuelle moyenne de huit millions de tonnes. Le Canada arrive au deuxième rang avec 4,6 millions de tonnes métriques par année. Suivi de la Turquie et des États-Unis, avec 4 et 3,5 millions de tonnes métriques respectivement. La campagne 2005/2006 est caractérisée par une consommation de 616 millions de tonnes alors que la production est estimée à 600 millions de tonnes, il en résulte une nouvelle baisse des stocks mondiaux qui passent à 136 millions de tonnes (Fig.3) (C.I.A, 2002); [3]. Au cours des dix dernières années la production mondiale de céréales (hors riz) a été inférieure à la demande à 8 reprises [3]. En Algérie, le blé dur (*Triticum durum*), es 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 [3]. La cause principale de la faiblesse de la production du



Fig.01 : différents types de céréales

blé dur en Algérie est le faible niveau de productivité (rendement) obtenu, soit 9 à 11 quintaux/hectare [5]. Cette faible productivité est elle-même due à des contraintes abiotiques (pluviométrie surtout), biotiques (adventices, surtout) et humaines (itinéraires techniques appliqués etc...) [5].

Le blé dur (*Triticum durum*) est une plante annuelle de la classe de Monocotylédones de la famille des Graminées, de la tribu des Triticées et du genre *Triticum* (Feillet, 2000) (Fig.2). En termes de production commerciale et d'alimentation humaine, cette espèce est la deuxième plus importante du genre *Triticum* après le blé tendre. Leur famille comprend 600 genres et plus de 5000 espèces (Feillet, 2000). Il s'agit d'une graminée annuelle de hauteur moyenne et dont le limbe des feuilles est aplati. L'inflorescence en épi terminal se compose de fleurs parfaites (Soltner, 1998). Le système racinaire comprend des racines séminales produites par la plantule durant la levée, ainsi que des racines adventives qui se forment plus tard à partir des nœuds à la base de la plante et constituent le système racinaire permanent (Bozzini, 1988). Le blé dur possède une tige cylindrique, dressée, habituellement creuse et subdivisée en entrenœuds. Certaines variétés possèdent toutefois des tiges pleines. Le chaume (talles) se forme à partir de bourgeons axillaires aux nœuds à la base de la tige principale (Bozzini, 1988). Le nombre de brins dépend de la variété, des conditions de croissance et de la densité de plantation (Clark *et al*, 2002). Comme pour d'autres graminées, les feuilles de blé dur se composent d'une base (gaine) entourant la tige, d'une partie terminale qui s'aligne avec les nervures parallèles et d'une extrémité pointue. Au point d'attache de la gaine de la feuille se trouve une membrane mince et transparente (ligule) comportant deux petits appendices latéraux (oreillettes) (Bozzini, 1988). La tige principale et chaque brin portent une inflorescence en épi terminal. L'inflorescence du blé dur est un épi muni d'un rachis portant des épillets séparés par de courts entrenœuds (Soltner, 1998). Chaque épillet compte deux glumes (bractées) renfermant de deux à cinq fleurs distiques sur une rachéole. Chaque fleur parfaite est renfermée dans des structures semblables à des bractées, soit la glumelle inférieure (lemma ou lemme) et la glumelle supérieure (paléa). Chacune compte trois étamines à anthères biloculaires, ainsi qu'un pistil à deux styles à stigmates plumeux. À maturité, le grain de pollen fusiforme contient habituellement trois noyaux.



Fig.02 : le blé dur.

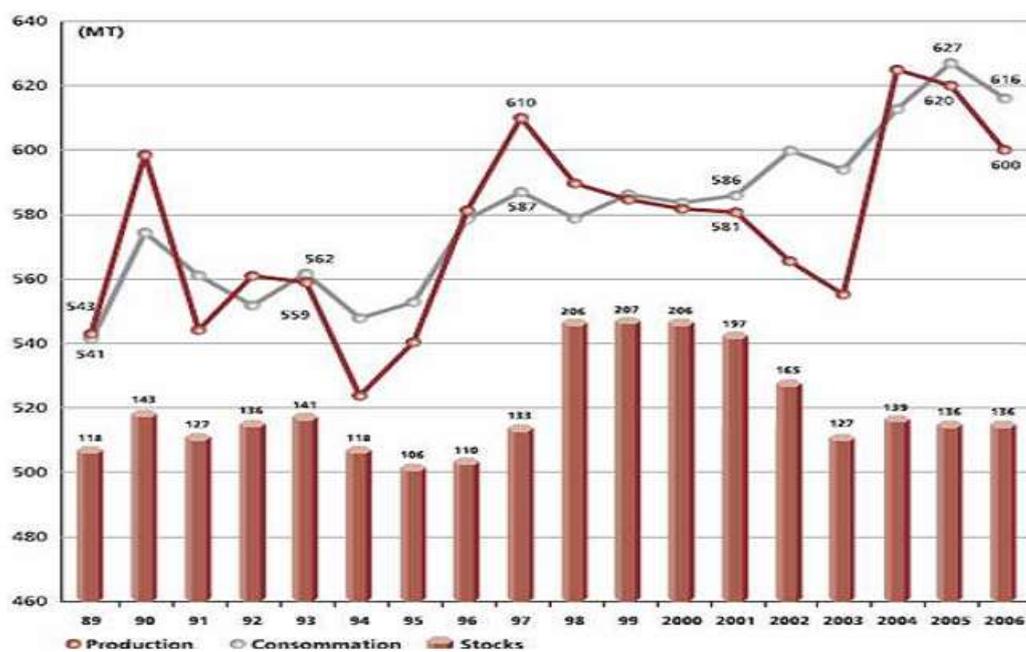


Fig.03 : les marchés mondiaux de blé [3].

Chaque fleur peut produire large endosperme et un embryon aplati situé à l'apex de la graine et à proximité de la base de la fleur (Fig. .4) (Soltner, 1998).

Essentiellement toutes les eaux d'irrigation contiennent des sels dissous. Plusieurs de ces sels sont bénéfiques pour la croissance des plantes, mais quelques un peuvent être phytotoxiques. On classifie la qualité de l'eau en fonction de la quantité de sels solubles qu'elle contient :

- Qualité acceptable : La concentration en sels solubles se situe entre 100 à 1000 ppm.
- Qualité inacceptable : La concentration en sels solubles est supérieure à 2000 ppm (James B .Beard, 1982).

Le stress hydrique est l'un des stress environnementaux les plus importants, affectant la productivité agricole autour du monde (Boyer, 1982). Il occupe et continuera d'occuper une très grande place dans les chroniques agro-économiques. C'est un problème sérieux dans beaucoup d'environnements arides et semi-arides, où les précipitations changent d'année en année et où les plantes sont soumises à des périodes plus ou moins longues de déficit hydrique (Boyer, 1982). Il existe de nombreuses définitions du stress hydrique. En agriculture, il est défini comme un déficit marqué et ce compte tenu des précipitations qui réduisent significativement les productions agricoles par rapport à la normale pour une région de grande étendue (Boots ma et al, 1996). En effet, on assiste à un stress hydrique lorsque la demande en eau dépasse la quantité disponible pendant une certaine période ou lorsque sa mauvaise qualité en limite l'usage (Madhva Rao et al, 2006). Le stress hydrique entraîne une dégradation des ressources d'eau douce en termes de quantité (surexploitation des eaux souterraines, rivières asséchées, etc.) et de qualité (eutrophisation, pollution par la matière organique, intrusion saline, etc.) (Mouhouche, 1997). Le stress hydrique peut se définir comme le rapport entre la quantité d'eau nécessaire à la croissance de la plante et la quantité d'eau disponible dans son environnement, sachant que la réserve d'eau utile pour la plante est la quantité d'eau du sol accessible par son système racinaire (Laberche, 2004). La demande en eau de la plante est quant à elle déterminée par le niveau de transpiration ou évapotranspiration, ce qui inclut les pertes d'eau tant au niveau des feuilles qu'au niveau du sol (Laberche, 2004).

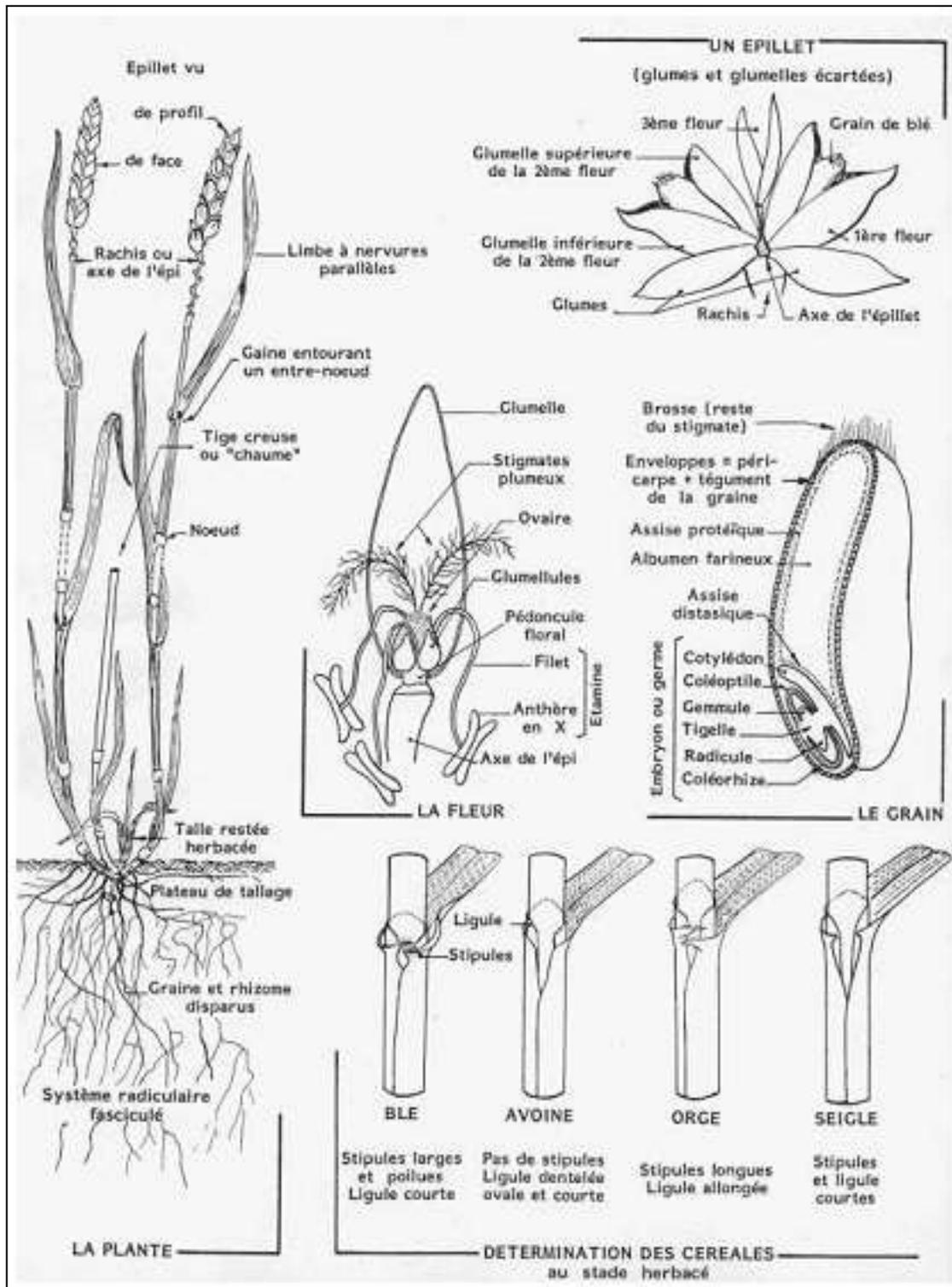


Fig. 04 : Morphologie des graminées (exemple du blé) (soltner, 1998).

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, 1997).

Un stress hydrique se traduit par une réduction de la croissance de la plante et de sa production par rapport au potentiel du génotype. Un stress hydrique précoce affecte en parallèle la croissance des racines et des parties aériennes, le développement des feuilles et des organes reproducteurs (Debaeke et *al*, 1996). Le rendement en grains chez le blé dépend fortement du nombre de grains par épi, du poids de grains par épi et du nombre d'épis par m² (Triboï, 1990). L'effet du déficit hydrique sur ces composantes et par conséquent sur le rendement, dépend du stade au cours duquel ce déficit survient (Debaeke et *al*, 1996). Ainsi, un déficit hydrique à la montaison se traduit par la chute du nombre d'épis par m², la régression intense des tailles et la baisse du nombre de grains par épi (Debaeke et *al*, 1996). À la fin de la montaison, 10 à 15 Jours avant l'épiaison, la sécheresse réduit le nombre de fleurs fertiles par épillet (Debaeke et *al*, 1996). Le manque d'eau après la floraison, combiné à des températures élevées, entraîne une diminution du poids de 1000 grains par altération de la vitesse de remplissage des grains et de la durée de remplissage (Triboï, 1990). Le manque d'eau après la floraison, combiné à des températures élevées, entraîne une diminution du poids de 1000 grains par altération de la vitesse de remplissage des grains et de la durée de remplissage (Triboï, 1990).

Au cours du remplissage des grains, le manque d'eau a pour conséquence une réduction de la taille des grains (échaudage), réduisant par conséquent le rendement (Gate et *al*, 1993). Ainsi, le risque de stress hydrique est-il possible presque durant tout le cycle biologique de la céréale. Par ailleurs et pour bien se développer, la plante doit disposer de mécanismes d'adaptation qui lui permettent de supporter le stress hydrique.

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' α cétooglutarate qui forme le statut carbonique pour la synthèse de la proline (Chaib, 1998). L'addition de l'ornithine dans le milieu de culture augmente la source de la proline par l'intermédiaire de l'enzyme ornithineamino-transférase (Chaib, 1998). Savouré et *al*, (1995) montrent chez *Arabidopsis* que l'augmentation de transcrits de la P5CR (Δ 1-pyrroline-5- carboxylate synthétase) est corrélée à une augmentation de proline. De plus, cet auteur a montré que cette augmentation était directement reliée à l'application du stress. En effet, lors de la phase de récupération juste après l'application du stress, le contenu en proline diminue en même temps que la quantité de transcrits correspondant à la P5CR (Δ 1-pyrroline-5- carboxylate synthétase). L'induction de ce gène est directement reliée à la régulation du taux de proline dans les cellules en fonction du stress. En effet, Ober et Sharp, (1994) mentionnent que l'ABA est nécessaire pour l'accumulation de la proline sous faible potentiel.

Le potentiel osmotique peut être maintenu pour un stress hydrique de faible ou moyenne intensité, par ajustement osmotique. Les sucres peuvent servir de composés solubles compatibles pour cet ajustement osmotique, comme de nombreuses autres molécules (proline, glycine-bétaïne ou pinitol). D'après Bensari et *al*, (1990) lorsque la contrainte hydrique cesse, la feuille reconstitue les réserves d'amidon et si une nouvelle contrainte hydrique intervient, le temps d'adaptation est plus court. En effet, Hare et Cress, (1997) remarquent que les sucres glucose, fructose et le saccharose représentent des osmotocums beaucoup moins puissants que la proline, ils participent eux aussi au maintien de la balance de la force osmotique.

Par ailleurs, il a été observé que sous stress hydrique, les réserves amylacées sont progressivement utilisées suite à leur conversion rapide en saccharose qui pourra être associé à une inhibition de la synthèse de l'amidon (Geigenberger et *al*, 1997). Ainsi, les enzymes liés au métabolisme des sucres semblent avoir une importance majeure dans la tolérance au stress hydrique (Geigenberger et *al*, 1997) L'implication des sucres dans la tolérance au stress hydrique a été mise en évidence par les corrélations observées entre le contenu en certains sucres et l'acquisition de la tolérance (Dé jardin 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).

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).

Des concentrations élevées en sel dans la rhizosphère provoquent un stress, du fait du déficit en eau et de la toxicité des ions. L'exclusion de sel et l'ajustement osmotique, jouent tous deux un rôle essentiel dans la tolérance à des environnements très salés. La concentration en sels dans l'environnement d'une plante varie énormément, elle peut être insuffisante ou excessive. Bien qu'elle constitue pratiquement un stress induit par de faibles concentrations salines, une carence en un nutriment et a été traitée. En fait le terme de stress salin s'applique surtout à un excès d'ions, en particulier, mais pas exclusivement, aux ions Na^+ et Cl^- . (Fig.4). A la surface du globe existent de vastes zones où une salinité élevée fait naturellement partie de l'environnement (Hay, 1987). L'eau de mer qui est constituée d'environ 3% de chlorure de sodium, contient 460 mM de Mg^{+2} et 540 mM de Cl^- , ainsi que des quantités plus faibles d'autres ions.

La salinité réelle des marais salins dépend, cependant de nombreux facteurs, comme leur altitude et leur éloignement de la mer, l'étendue du mélange eau de mer, eau douce, la quantité d'eau évaporée. Une forte salinité est également présente sur les rives de lacs intérieurs, comme le Grand Lac Salé ou la Mer Morte, qui ne possèdent pas d'évacuation et qui accumulent du sel du fait de l'évaporation. Une troisième catégorie de sols très salés est constituée par les terres agricoles qui ont été très irriguées. Comme l'irrigation est particulièrement intense dans des régions plutôt sèches, il se produit une perte d'eau par l'association de l'évaporation et de la transpiration, Phénomène appelé évapotranspiration. Il s'ensuit que les sels qui ont été fournis par l'eau d'irrigation se trouvent concentrés dans la sole. L'augmentation de la

salinité des sols entraîne de sérieuses conséquences, pouvant aller jusqu'à entraver toute production. En Chine, par exemple, plus de sept millions d'hectares sont classés dans la catégorie des sols salins, du fait de leur irrigation séculaire. Malheureusement la plupart des espèces cultivées, importantes sur le plan économique, sont très sensibles aux conditions de salinité du sol. Cela a conduit à modifier les pratiques d'irrigation intensive, afin de réduire l'apparition de la salinité, ainsi qu'à sélectionner des variétés plus tolérantes au sel. L'accumulation des sels dans le sol (Hayek, 2004) affecte près de 7% de la surface globale dans le monde (Munns, 2002). L'Algérie se situe parmi les pays touchés, presque 3,2 millions d'hectares de la surface sont salins (Hamdy, 1999). La salinité, qu'elle soit naturelle ou induite, constitue un frein au développement des plantes cultivées.

En effet, la salinité agit sur tous les aspects de la biologie des plantes. Ces effets négatifs du sel sont généralement considérés sous trois aspects :

- L'aspect osmotique qui a eu la prépondérance des études et qui se traduit par une moindre disponibilité en eau pour les plantes.
- L'aspect ionique et la toxicité des ions Na^+ et Cl^- qui ont un effet néfaste sur les structures membranaires.
- Le déséquilibre nutritionnel causé par les quantités excessives de Na^+ et Cl^- .



Fig.05 : la remonté des sels à la surface des sols

Objectif de travail :

L'objectif du présent travail est de comparer la réponse du blé dur au stress salin de trois géotypes de blé dur : Virton, Waha et sémito, faisant preuve de tolérance à la salinité de différent degré. L'étude est illustrée en trois parties : introduction générale, matériels et méthodes et résultats et discussion.

1. Matériel et méthodes

1.1. Matériel

1.1.1. Matériel végétal

L'étude a porté sur trois (03) génotypes de blé dur (*Triticum durum*) qui sont fournis par la coopérative des céréales et des légumes secs (CCLS) de Guelma. Le tableau 1, représente les principales caractéristiques des trois variétés de blé dur ainsi que leur origine.

1.1.2. Dispositif expérimental

Les graines sont décortiquées manuellement, désinfectées à l'eau de javel à 5% pendant 5 minutes puis rincées abondamment à l'eau distillée pour éliminer toute trace de chlore. Elles sont ensuite mises à germer dans des boîtes de Pétri tapissées par une compresse stérile, jusqu'au stade de deux feuilles. Nous avons réalisé l'étude sur trois variétés de blé dur. Chaque variété porte sur 540 graines, de 30 graines par boîte de Pétri avec un témoin. La figure (6) illustre les étapes de l'expérimentation.

1.1.2.2. Application du stress :

Le stress salin est appliqué aux 14 jours, réparti en 6 traitements salins de différentes concentrations de Na Cl : 1, 3, 5, 6, 8 et 10 mM de trois répétitions pour chaque espèce. Les graines sont irrigués régulièrement deux fois par jour pendant 14 jours jusqu'à l'obtention de la deuxième feuille.

1.2. Méthodes d'analyses

1.2.1. Détermination des paramètres morphologiques

1.2.1.1. Pourcentage de germination (G%)

L'évolution de la germination est suivie durant deux semaines (14 jours) en calculant le pourcentage cumulé de germination chaque trois jours, l'émergence de la racine étant l'indicateur de la germination .

1.2.1.2. La longueur des feuilles et des racines (LF)

La longueur des feuilles et des racines des trois variétés de blé dur mesurée à l'aide

Tab. 01 : Les trois géotypes étudiés, leurs origines et leurs principales caractéristiques. (Haloui. F, 2011)

Géotype	Symbole	Origine	Principales caractéristiques
Simeto	Sim	Italie	<p>Caractéristiques variétales : Semi-précoce de type hiver a tallage fort avec un rendement en grain optimal : 50qx/ha et de poids de mille grain moyen, elle est tolérante au froid est sensible à la sécheresse. Tolérante à la verse.</p> <p>Caractéristiques technologique : assez résistante à la moucheture et de qualités très bonnes.</p>
Virton	Vit	Espagne	<p>Caractéristiques variétales : Semi-précoce de type hiver a tallage moyen avec un rendement en grain optimal : 60qx/ha et de poids de mille grain élève, elle est résistante au froid est sensible à la sécheresse. Tolérante à la verse</p> <p>Caractéristiques technologique : assez résistante à la moucheture et au mitadinage.</p>
Waha	W	CIMMYT	<p>Caractéristiques variétales : Tardive à la sécheresse en semis précoce a paille courté (inferieur à 100cm) elle est sensible à la rouille brune et au piétin échaudage le grain est claire ambré à roux.</p> <p>Caractéristiques technologique : bonne résistance à la moucheture et semoule assez bonne.</p>

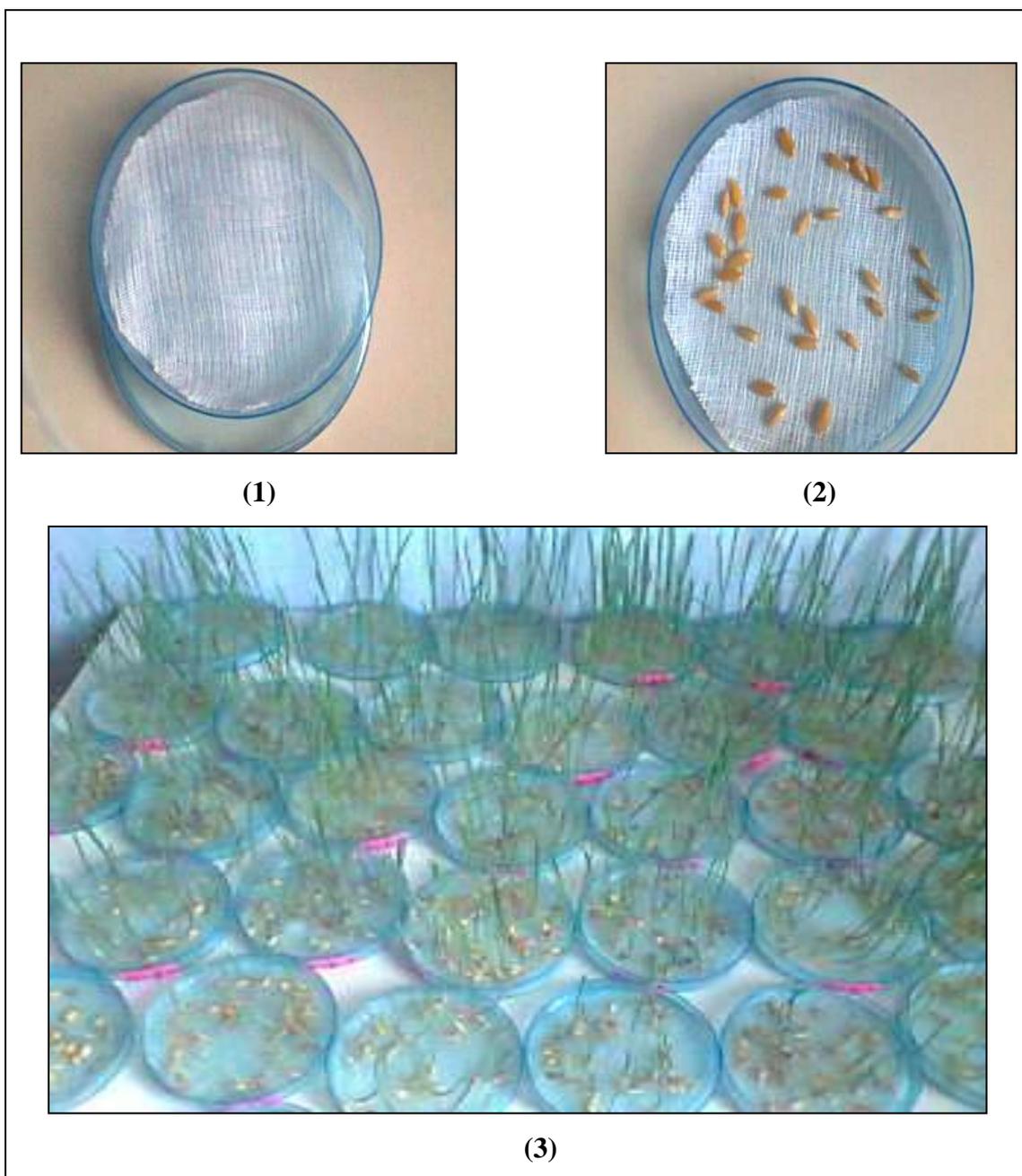


Fig. 6 : Installation de l'expérimentation. (Nada, 2013)

(1): préparation des boites de Pétris

(2) : Mise en place les graines

(3) : Mise en place l'expérimentation après 14 jours

Comparativement au témoin. Les mesures de la longueur ont débuté 4 jours après le début de l'irrigation à l'eau salée.

1.2.2. Détermination des paramètres physiologiques

12.2.1. Détermine le poids frais des feuilles(PFF) et des racines (PFR)

Les feuilles et les racines sont coupées et broyer puis pesés. Les échantillons secs sont pesés, ensuite déposés dans des tubes fermé à et placés dans un réfrigérateur en attendant les dosages.

1.2.3. Détermination des paramètres biochimiques

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

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

La proline ou acide pyrrolidine 2-carboxylique est l'un des vingt principaux acides aminés qui entrent dans la constitution des protéines. La proline est facilement oxydée par la ninhydrine ou tricetohydrindène. C'est sur cette réaction que se base le protocole de mise en évidence de la proline dans les échantillons foliaires (El Jaafari, 1993). La méthode suivie est celle de Trolls et Lindsley, (1955), simplifiée et mise au point par Rasio et *al.*, (1987). Elle consiste à prendre 100 mg de matière fraîche dans des tubes à essai contenant 3 ml de l'éthanol à 40%. Le tout est chauffé à 60°C dans un bain-marie pendant 30mn. (Les tubes sont recouverts de papier aluminium pendant le chauffage pour éviter la volatilisation de l'alcool.). Après refroidissement ; on prélève 1ml d'extrait auquel il faut ajouter :

- 1 ml d'acide acétique (CH_3COOH) ;
- 25 mg de ninhydrine ($\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_4$) ;
- 1 ml de mélange contenant { 120 ml d'eau distillée, 300 ml d'acide acétique, 80 ml d'acide orthophosphorique ($\text{H}_3\text{PO}_4.d=1.7$). }

La solution obtenue est portée à ébullition pendant 30 mn à 100°C, la solution vire au rouge, après refroidissement, 5 ml de toluène sont rajoutés à la solution qui est agitée, deux phases se séparent (une phase supérieure à la couleur rouge contient la proline et

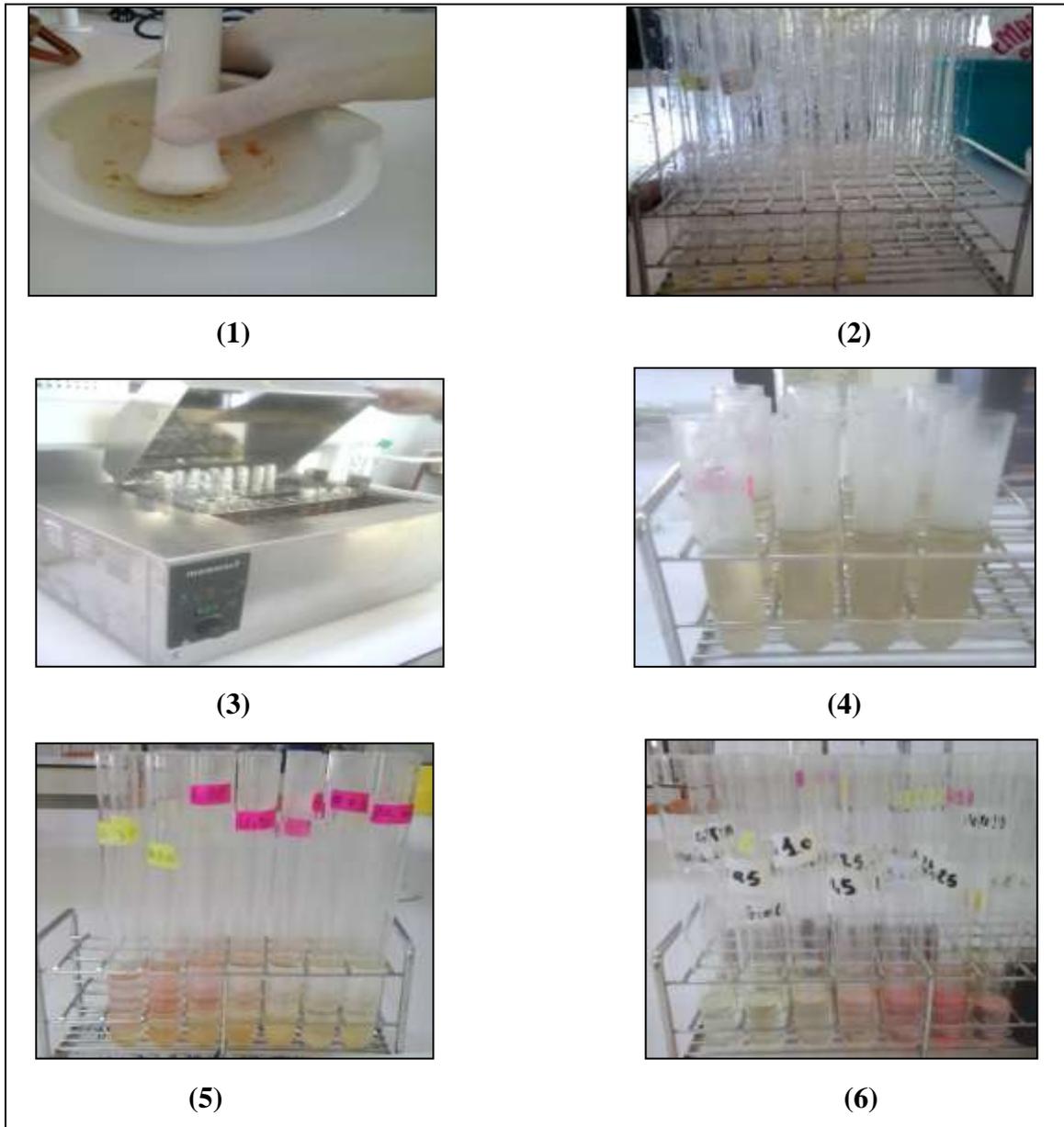


Fig.10 : Différentes étapes de dosage de la proline (Selwa, 2013)

- (1) : les racines broyées par un mortier
- (2) : Adition de 3ml d'éthanol
- (3) : Placer les tubes d'un bain-Marie
- (4) : Adition de l'extrait
- (5) : Apparition de deux phases
- (6) : Séparation de la phase supérieure

une phase inférieure transparente sans proline). Après avoir éliminé la phase inférieure, la phase supérieure est récupérée est déshydratée par l'ajout d'une spatule de Sulfate de Sodium Na_2SO_4 anhydre (pour éliminer l'eau qu'elle contient). On détermine la densité optique (Do) à l'aide d'un spectrophotomètre (type 20D) sur une longueur d'onde de 528nm. Les valeurs obtenues sont converties en taux de proline par le biais d'une « courbe étalon » (Fig.7), préalablement établie à partir d'une série de solution de concentration en proline connue. Cette courbe est utilisée pour déterminer les teneurs en proline dans les feuilles des plantes.

1.2. 3. 2. Dosage des sucres solubles (Suc) « $\mu\text{g}/100\text{mg MF}$ »

Les sucres solubles totaux (saccharose, glucose, fructose, leurs dérivés méthyles et les polysaccharides) sont dosés par la méthode au phénol de Dubois et *al.*, (1956). Elle consiste à prendre 100 mg de matière fraîche, placées dans des tubes à essais, on ajoute 3 ml d'éthanol à 80% pour faire l'extraction des sucres. On laisse à température ambiante pendant 48h à l'obscurité. Au moment du dosage les tubes sont placés dans l'étuve à 60°C pour faire évaporer l'alcool. Dans chaque tube on ajoute 20ml d'eau distillée à l'extrait. C'est la solution à analyser. Dans des tubes à essais propres, on met 2ml de la solution à analyser, on ajoute 1ml de phénol à 5% (le phénol est dilué dans de l'eau distillée); on ajoute rapidement 5ml d'acide sulfurique concentré 96% tout en évitant de verser de l'acide contre les parois du tube. On obtient, une solution jaune orange à la surface, on passe au vortex pour homogénéiser la couleur de la solution. On laisse les tubes pendant 10mn et on les place au bain-marie pour 10 à 20mn à une température de 30°C (La couleur de la réaction est stable pendant plusieurs heures.). Les mesures d'absorbances sont effectuées à une longueur d'ondes de 485 nm. Enfin des résultats des densités optiques sont rapportés sur un courbe étalon (Fig. 08) des sucres solubles (exprimés en glucose).

1.2.3.3. Dosage des protéines (méthode de Bradford 1976)

Le dosage des protéines se fait suivant la méthode de Bradford à l'aide du «Bio-Rad ProteinAssay» (Bio-Rad). Cette technique se base sur la modification de la longueur d'onde d'absorption du bleu de coomassie lorsque ce dernier se fixe sur les protéines (entre 460 nm et 595nm). Le courbe étalon est réaliser avec une solution de

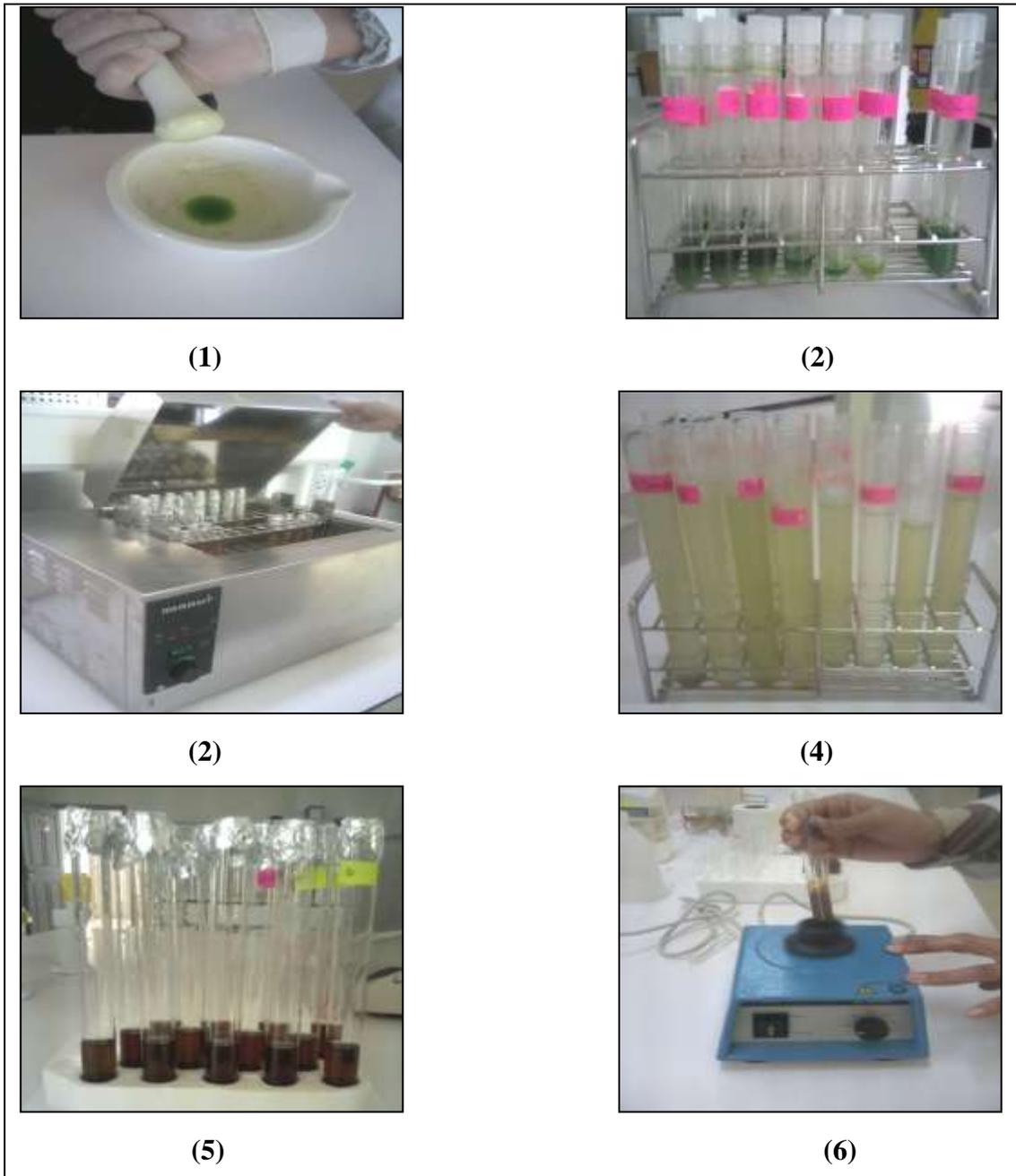


Fig.11 : Différentes étapes de dosage des sucres solubles (Hanane, 2013)

- (1) : les feuilles broyées par un mortier
- (2) : Adition de 3ml d'éthanol
- (3) : Placer les tubes d'un bain-Marie
- (4) : Adition de 20ml d'eau distillée
- (5) : Adition de phénol et acide sulfurique
- (6) : L'agitation de la solution

BSA ($2\mu\text{g/ml}$ à $20\mu\text{g/ml}$). Elle consiste à prendre 100 mg de matière fraîche, placées dans des tubes à essais, on ajoute 3 ml d'éthanol à 80%, les tubes sont placés dans l'étuve à 80°C pour faire évaporer l'alcool. On ajoute 2ml de réactif de bleu de coomassie qui constitue de :

- 20 mg bleu de Coomassie
- 25 ml éthanol absolu
- 50 ml acide phosphorique 85%
- 400 ml eau distillé stérile
- 15 mg SDS

On détermine la densité optique (D_o) à l'aide d'un spectrophotomètre (type 20D) sur une longueur d'onde de 528nm. Enfin des résultats des densités optiques sont rapportés sur un courbe étalon (Fig. 9).

1.2.4. La chromatographie sur couche mince (CCM) :

Il s'agit là d'une technique d'analyse, très utile et simple à mettre en œuvre. On utilise en général pour suivre l'avancement d'une réaction, pour connaître la composition d'une fraction séparée sur colonne ou visualiser la pureté d'un produit. La chromatographie sur couche mince repose sur les phénomènes d'adsorption et d'interactions. Les étapes de la CCM sont présentes comme fait :

➤ Préparation de la cuve à chromatographie :

La cuve à CCM est remplie par l'éluant dont la composition est de 12mL d'éther de pétrole, 4mL d'acétone et 4ml d'éthanol. Il est placé dans la cuve par une hauteur d'1cm environ.

➤ Préparation de la plaque à chromatographie :

La plaque est coupée par un ciseau de la côté gauche pour préciser le dépôt de témoin ensuite on trace sur la plaque à 1 cm du bord inférieur un très fin trait au crayon qui servira à repérer les dépôts ; on veillera à ne surtout pas abîmer la surface de la plaque (ce qui fausserait l'analyse). La solution à analyser est alors déposée en un point de cette ligne.

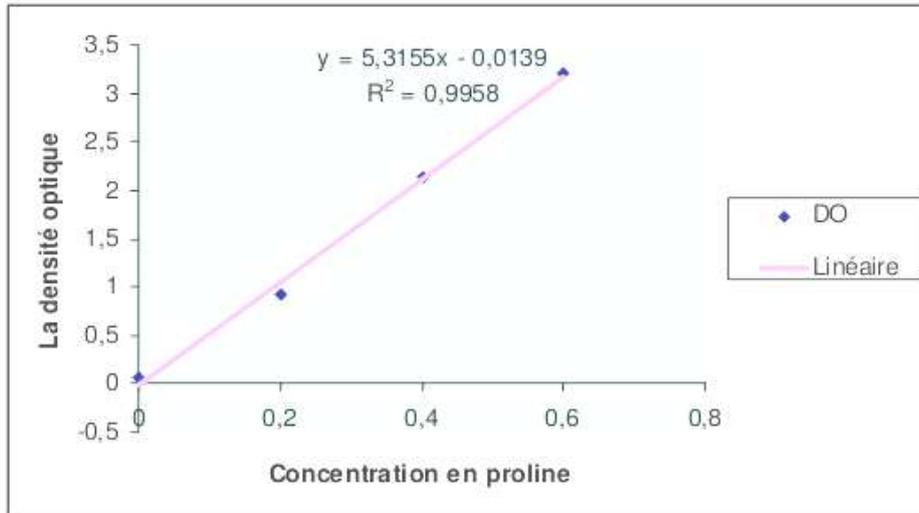


Fig. 07 : Courbe étalon du dosage de la proline. (Nada, 2013)

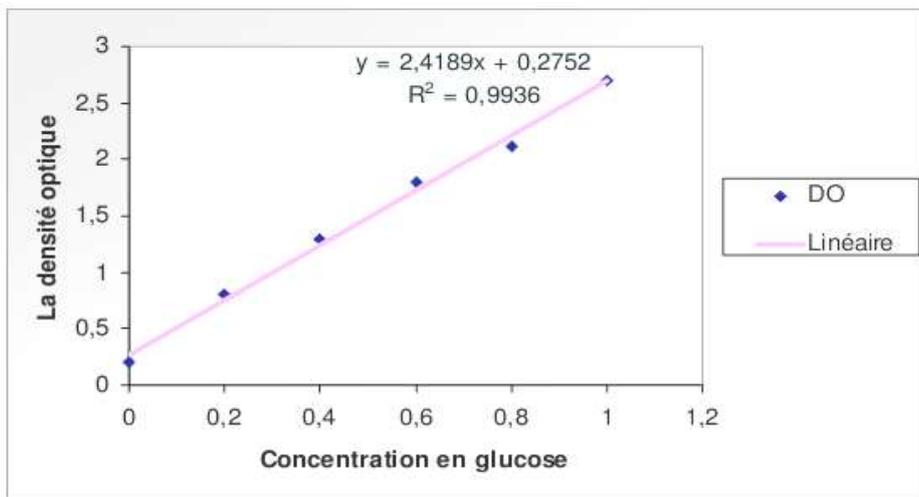


Fig. 08 : Courbe étalon du dosage des sucres solubles.(Selwa , 2013)

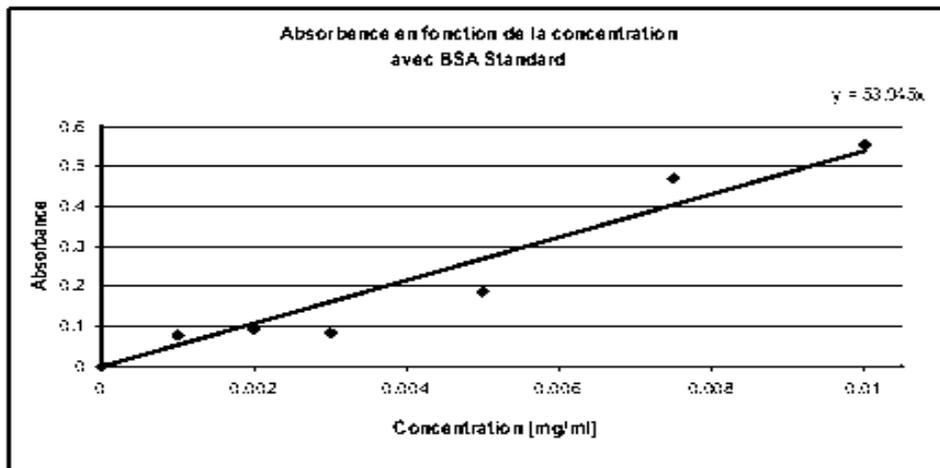
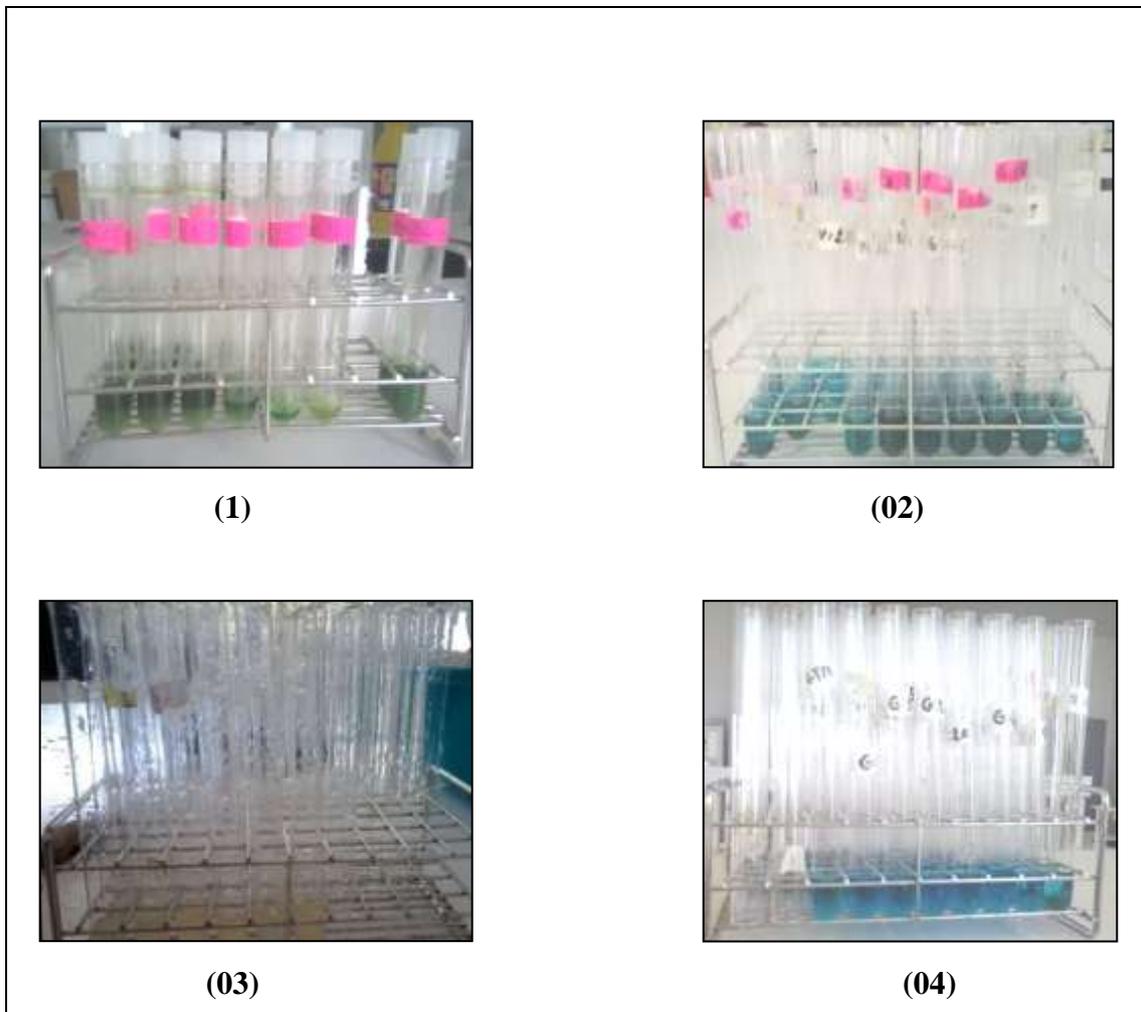


Fig. 09 : Courbe étalon du dosage des protéines (Hanane , 2013)



(1)

(02)

(03)

(04)

Fig.12 : Différentes étapes de dosage des protéines (Nada, 2013)

(1) : Matière fraîche des feuilles avec 2ml d'éthanol.

(2) : Addition de réactif de bleu de coomassie.

(3) : Matière fraîche des racines avec 2ml d'éthanol.

(4) : Addition de réactif de bleu de coomassie.

➤ **Dépôt de l'échantillon**

L'échantillon est déposé à l'aide d'une micropipette ou d'un tube capillaire en appuyant légèrement et brièvement l'extrémité de la pipette sur la couche d'adsorbant en prenant soin de ne pas le détériorer. Il est important que le diamètre de la tache produite au moment du dépôt soit faible ; idéalement, il ne devrait pas dépasser 3 mm. Ce sont généralement les dépôts les moins étalés qui permettent les meilleures séparations. Pour augmenter la quantité déposée, il est toujours préférable d'effectuer plusieurs dépôts au même point, en séchant rapidement entre chaque application plutôt que de déposer en une seule fois un grand volume d'échantillon qui produirait une tache plus large. On vérifie l'identité des composants présumés d'un échantillon, en procédant à un dépôt séparé d'une solution de chacun d'eux puis à celui de leur mélange. Ces solutions témoins permettent de comparer la migration de chaque composé avec celle de l'échantillon à analyser.

➤ **Développement de la plaque.**

La plaque est placée en position verticale dans une cuve et le solvant qui en recouvre le fond monte par capillarité. La cuve doit demeurer fermée et ne pas être déplacée. Lorsque la position du front du solvant arrive à environ 1 cm de l'extrémité supérieure, la plaque est retirée de la cuve, le niveau atteint par le solvant est marqué par un trait fin, puis la plaque est séchée à l'air libre ou à l'aide d'un séchoir. Les taches sont ensuite cerclées au crayon.



Fig.12 : La cuve de CCM (Selwa, 2013)



Fig.13 : La migration des dépôts pendant la CCM (Hanane, 2013)

Analyse statistique

Les résultats sont soumis des analyses statistiques basées sur des tests de comparaison des moyennes ont été appliqués aux différents paramètres morphologique, physiologiques et paramètres biochimique étudiés selon la méthode de Tukey.

2- Résultat et discussions

Au niveau de cette expérience, le comportement des trois génotypes de blé dur étudiés vis-à-vis du stress salin est analysé par une étude morphologique (longueur des feuilles (LF) et des racines (LR) et le pourcentage de germination (G%)) ,physiologique (quantité de matière fraîche des feuilles (MFF) et des racines (MFR) et biochimique (teneur en proline, en protéines totales et en sucres solubles). On rappelle que tous ces paramètres ont été mesurés sur la deuxième feuille bien développée.

Les résultats des pourcentages cumulés de germination des graines de différentes variétés de blé dur étudiées sont présentés dans les tableaux 2, 3, et 4. Les histogrammes montrent que la cinétique de germination varie distinctement avec la variété et le traitement. Le pourcentage de germination diminue significativement avec l'augmentation de la concentration en NaCl. Néanmoins, l'allure générale des histogrammes de cinétique de germination pour le témoin et le traitement 1 mM de NaCl est pratiquement semblable pour les trois Variétés étudiées et elles présentent un pourcentage de germination le plus élevée 96,66%. Le taux de germination de variété Vit varie de 83,33 à 100%. A partir de la dose 3 mM de l'NaCl, le pourcentage de germination commence à diminué progressivement jusqu'à 83,33%. Pour cette variété, la réponse au stress salin provoqué à 1 mM est similaire à celle du témoin. (Tab.2). (Fig.13). Le taux de germination de variété Vit est plus de 96.66% pour les doses les moins salines. Toutefois, en présence des concentrations croissantes de NaCl (3, 5, 6, et 8 Mm) (Fig.14). Une diminution progressive du taux de germination a été observée ou ils atteignent 93.33%, 90% et 86.66% respectivement. (Tab.3) Le pourcentages cumulés de germination a été gravement touchée et ne dépasse pas 80%, pour la variété Sém par rapport au témoin. Le taux de germination, en conditions de stress salin, donne toujours une tendance plus ou moins précise du comportement des variétés étudiées

(Ben Naceur M, 2001). La réponse des trois variétés de blé dur (W, Sém, et Vit) au stress salin est variable en fonction de l'intensité du stress et de la variété elle-même. En effet, pour un stress de 1mM, la plupart des variétés subissent une diminution de leur taux de germination comparativement aux témoins respectifs, à l'exception de W qui a peu maintenir un taux de germination légèrement supérieur aux témoins (fig 13). Lorsque l'intensité du stress est encore plus élevée (8 mM), plus les variétés sont fortement affectées et leurs taux de germination ne dépassent pas les 80 %. Cependant, la variété W montrée une plus grande tolérance au sel qui affiche un taux de germination proche de 84 %. La variété Vit et Sém montrent une diminution de 20% par rapport aux témoins. L'analyse de la variance montre une différence significative entre les différents traitements (1, 3, 5, 6, et 8 mM). Globalement, nos résultats montrent un effet dépressif du sel sur la germination des graines et concordent avec ceux d'autres études (Mallek-Maalej, 2004. Allagui MB, 2005. Rachidai A, 2000.)

En outre, ces traitements au stress salin réduisent la longueur de la feuille ainsi que le système racinaire dans les trois génotypes, Les figures 16 et 17 montrent une diminution importante de la longueur des feuilles de variété W en fonction du degré du stress salin appliqué ou il atteint 9,2 cm en présence de concentration la plus saline (8 mM de NaCl) par rapport au traitement le moins salé (1 mM de NaCl). La longueur des racines de cette variété varie inversement avec le taux de salinité, lorsque la salinité du milieu augmente la longueur des racines diminue. 8,6 cm pour la dose 8 mM de l'NaCl par contre elle dépasse 19,9 cm pour le témoin. La longueur des feuilles et de système racinaire de variété Vit est un bon indicateur de l'état hydrique, elle diminue légèrement chez les plantes stressées à la salinité (Fig.18 et 19). Cela se remarque particulièrement pour la dose 8 mM de l'NaCl ou la longueur des feuilles atteint 7,8 cm par rapport au témoin et qui est égale 15,1 cm. Cependant la longueur des racines de variété Vit atteint 6,4 cm pour la dose 8 mM de NaCl. Par ailleurs une diminution progressive est observée de la longueur des racines de variété Sém ou elle atteint 11.9 cm pour 1 mM de NaCl comparé au témoin qui est égale 18,2 cm. La longueur des feuilles de cette variété est égale 6,4 cm par rapport

Tableau. 2 : L'effet de NaCl sur le pourcentage de germination de variété W

	Témoin	1mM	3mM	5mM	6mM	8mM
3 jours	96,66	90	86,66	86,66	83,33	83,33
6 jours	100	96.66	90	86,66	83,33	83.33
9 jours	100	100	90	90	83,33	83.33
12 jours	100	100	93,33	90	90	86.66
14 jours	100	100	93,33	90	90	86.66

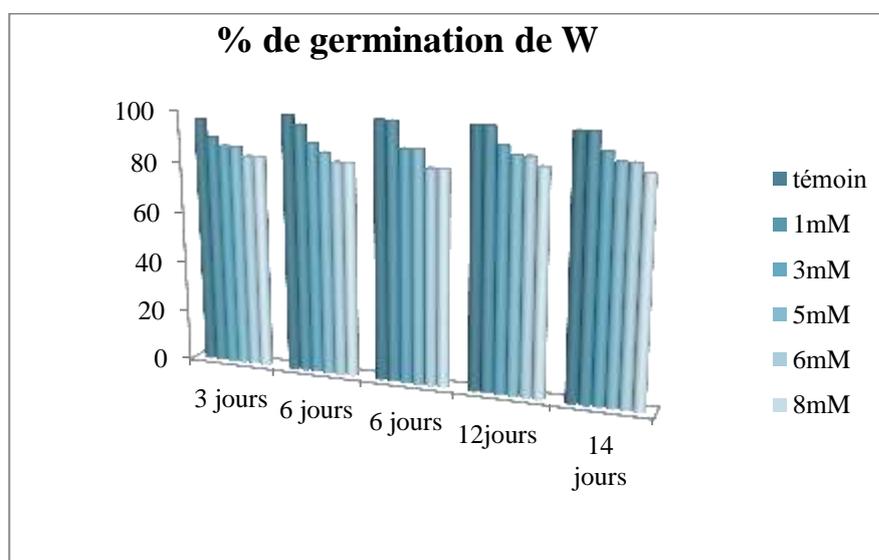


Fig.13 : Comparaison entre l'évolution de pourcentage de germination de génotype W chaque 3 jours (Nada, 2013)

Tableau .3 : L'effet de NaCl sur le pourcentage de germination de variété Vit

	Témoin	1mM	3mM	5mM	6mM	8mM
3 jours	86,66	86,66	80	80	76,66	56,66
6 jours	96,66	96,66	93,33	86,66	80	80
9 jours	96,66	96,66	93,33	86,66	80	80
12 jours	100	96,66	96,66	90	83,33	83,33
14 jours	100	100	96,66	90	83,33	83,33

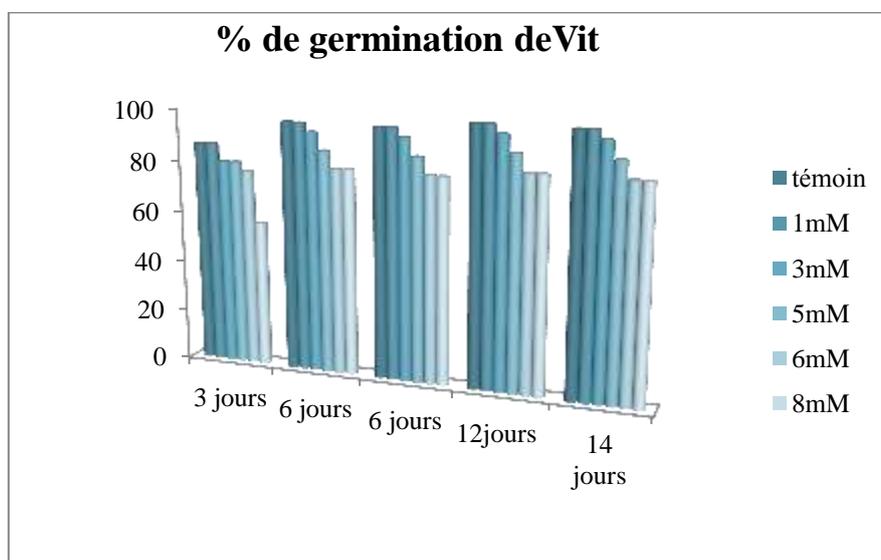


Fig.14 : Comparaison entre l'évolution de pourcentage de germination de génotype Vit chaque 3 jours (Selwa, 2013)

Tableau. 4 : L'effet de NaCl sur le pourcentage de germination de variété Sém

	Témoin	1mM	3mM	5mM	6mM	8mM
3 jours	90	86,66	80	73,33	66,66	53,33
6 jours	93,33	90	80	80	73.33	53.33
9 jours	96.66	93.33	83.33	83.33	73,33	56.66
12 jours	96.66	96,66	86.66	86,66	80	73.33
14 jours	100	96,66	90	86,66	83.33	80

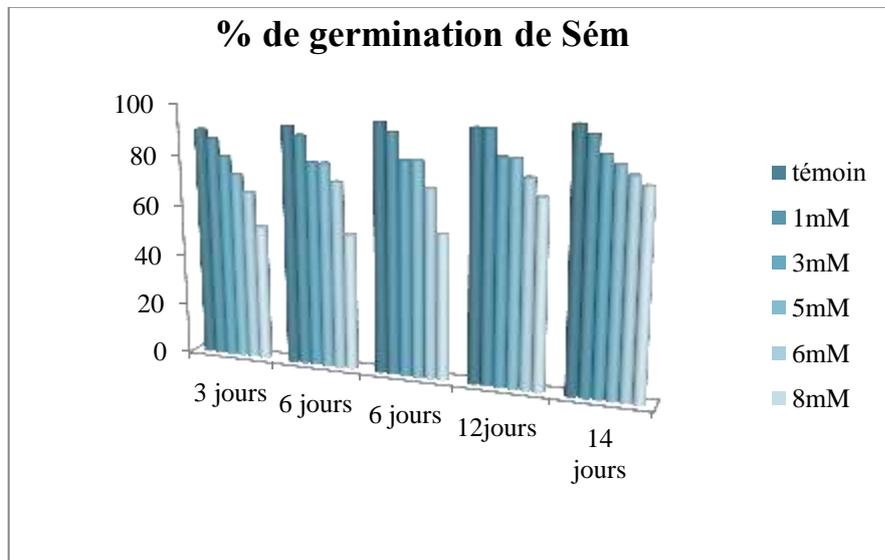


Fig.15 : Comparaison entre l'évolution de pourcentage de germination de génotype Sém chaque 3 jours (Hanane, 2013)

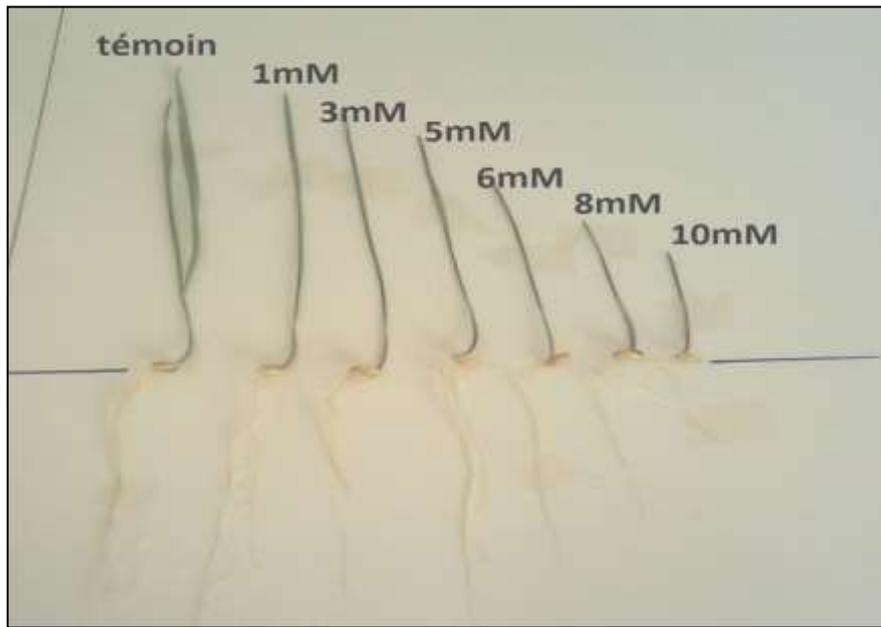


Fig.16 : L'effet de stress salin de génotype W (Nada, 2013)

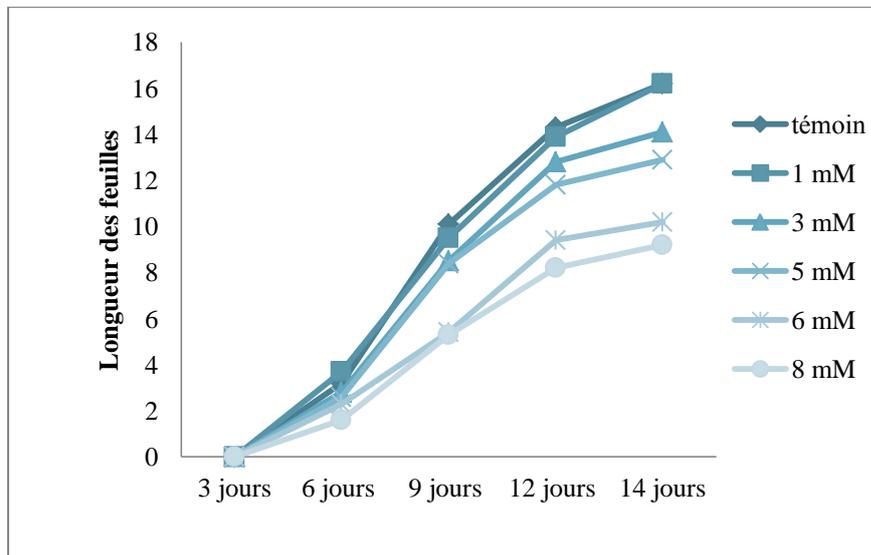


Fig.17 : L'effet de NaCl sur la longueur des feuilles de génotype W (Nada,

2013)

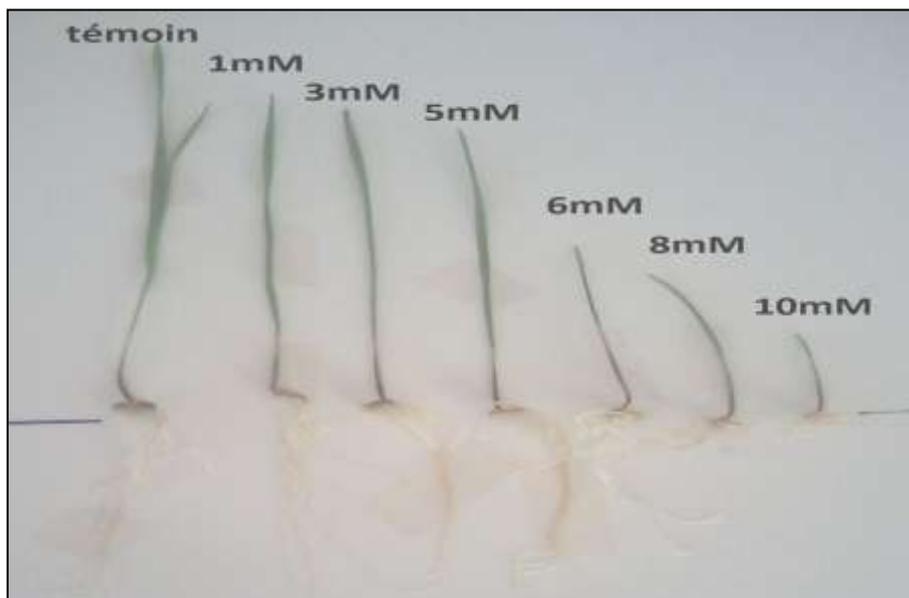


Fig.18 : L'effet de stress salin de génotype Vit (Nada, 2013)

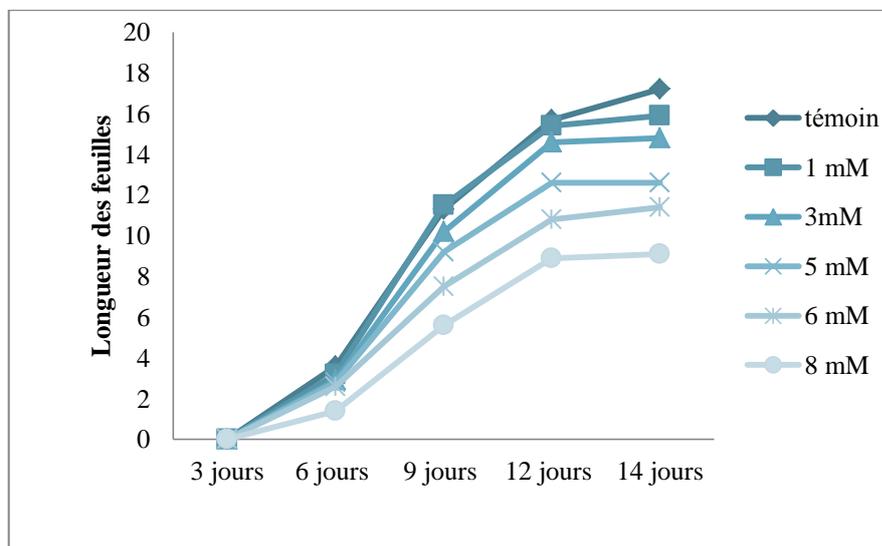


Fig.19 : L'effet de NaCl sur la longueur des feuilles de génotype Vit (Hanane, 2013)

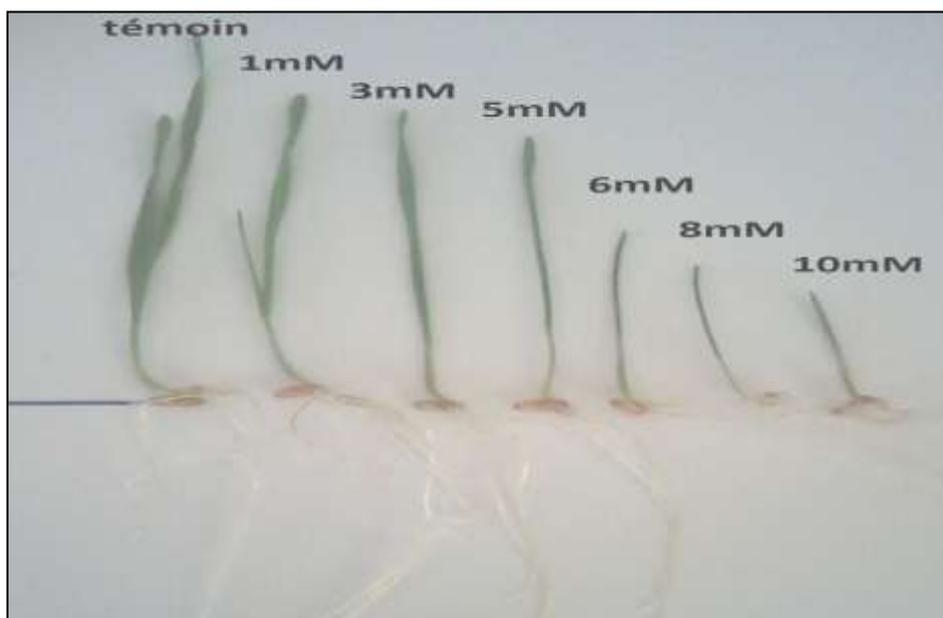


Fig.20 : L'effet de stress salin de génotype Sém (Meguellatni , 2013)

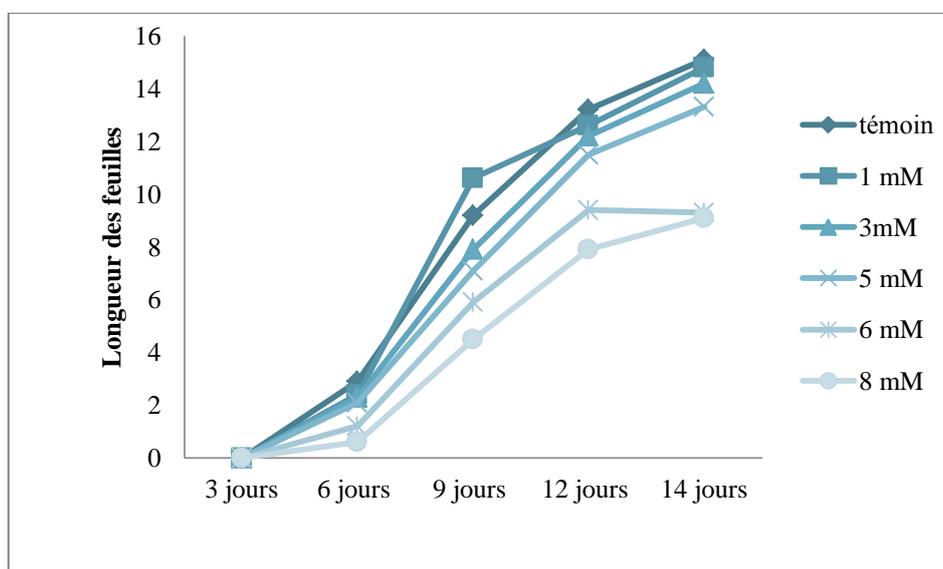


Fig.21 : L'effet de NaCl sur la longueur des feuilles de génotype Sém (Meguellatni, 2013)

Tableau.8 : L'effet de NaCl sur la longueur des racines des trois variétés.

Génotypes	Témoin	1 mM	3 mM	5 mM	6 mM	8 mM
Vit	18,9	15,3	13,5	10,5	9,6	6,4
Sém	18,2	11,9	10,7	9,2	8,2	6,4
W	19,9	16,9	10,6	9,9	9,4	8,6

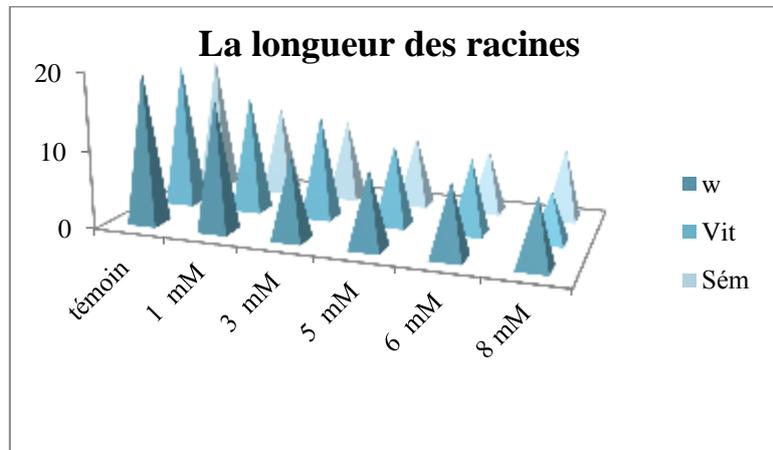


Fig.22 : Effet de différentes concentrations de NaCl sur la longueur des racines des trois variétés de blé dur (Aidaoui , 2013)

concentrations moins salées (1 et 3 mM de l'NaCl) qui présentent des longueurs respectivement de l'ordre de 15,1 cm et 14,8 cm. L'analyse de la variance incluant les sept traitements (témoin, 1, 3, 5, 6, 8 et 10 mM) fait ressortir les variétés Vit et W sont moins affectées alors que la variété de Sém est plus affectée par le sel. Nos résultats sont en accord avec ceux de Allah CR Grown, 1999 et Garcia-Legaz, 1993, qu'ils ont montré un effet variable du stress salin sur la croissance de la partie aérienne de nombreuses espèces végétales. Nos résultats montrent clairement que la longueur des racines des trois variétés de blé dur étudiées sont plus longues en absence du sel ou dans un milieu enrichi de NaCl à faible concentration (1, et 3 mM). Lorsque la concentration en sel augmente, le taux de germination et les longueurs diminuent.

Les résultats obtenus des PFF et PFR sont illustrés dans les respectivement dans les tableaux 6 et 7. Il a été constaté une augmentation des valeurs du PFF pour les doses les moins salées (témoin, 1, et 3 mM de l'NaCl chez les différents génotypes étudiés. Chez la variété W, les valeurs du PFF très proches entre elles, ces valeurs varient de 1,54g au témoin à 1,42 g au premier niveau de stress (1 mM de NaCl), et 1,41 g pour le deuxième niveau de stress (3 mM de NaCl). Une nette augmentation du PFF est notée chez la variété Vit, ses valeurs changent successivement ; 2,13g chez le témoin, 1,76g, 1,61g, 1,54g, et 0,74g pour les doses 1, 3, 5, et 6 mM de l' NaCl respectivement, et 0,42g pour le cinquième niveau de stress (8 mM de l' NaCl). Chez la variété Sém, les valeurs du PFF varient de 0,90 et 1,01g pour le témoin cette variété présente les valeurs les plus petites ou il atteint 0,35g pour la dose 8 mM de l' NaCl. (Tab.9)

Les valeurs du PFR représentent les valeurs les plus élevées 5,33g et 4,05g pour la variété W et 4,47g et 4,39g pour la variété Vit par contre la variété Sém présente des valeurs les plus petites ; 3,12g et 2,77g. Sous les conditions d'irrigation les plus salées les valeurs de PFR sont diminuées ou ils atteignent 2,33g et 2,13g pour la variété W, 1,65g et 1,31g pour la variété Vit, 1,24g et 0,70g pour la variété Sém pour les doses 6, et 8 mM de NaCl respectivement. Ces résultats montrent que le poids frais des feuilles (PFF) et des racines (PFR) diminue significativement avec l'augmentation de la concentration en NaCl.

Néanmoins la variété Sém est plus sensible à la salinité que les deux autres variétés étudiées (W et Vit).

Les résultats obtenus de la proline, des protéines totales et les sucres solubles chez les trois variétés sont représentés respectivement dans les figures 22, 23. Au niveau des feuilles de la variété W, l'effet des doses de NaCl testées sur la synthèse de la proline sont très hautement significatif ($p \leq 1\%$). Cependant, au niveau des racines les doses 4 et 5 ont le même effet, contrairement aux doses 2 et 3. En ce qui concerne la dose 1, la réponse au stress salin est similaire à celle du témoin. Chez la variété W, la variation de la proline dans les racines débute à partir de la dose 2, ensuite l'adaptation au stress salin est constatée au niveau des doses 4 et 5. Pour la variété Vit, l'augmentation des concentrations de la proline est très hautement significative ($p \leq 1\%$) dans les feuilles. Dans les racines, la réponse au stress salin est différente du fait que l'accroissement de la proline sous l'effet des doses 3, 4 et 5 est très hautement significatif. De plus l'effet des doses 1 et 2 est le même sur le métabolisme de la proline. Par ailleurs, la réponse à la dose 1 est comparable à celle du témoin. Ce dernier résultat est constaté aussi au niveau de la variété W. Dans la variété Sém et au niveau des feuilles, l'effet de la dose 1 est non significatif sur la synthèse de la proline par rapport au témoin. Tandis que l'augmentation de la proline sous l'effet des doses 2 et 3 est la même mais elle est très hautement significative sous l'effet des doses 4 et 5. Au niveau des racines, la réponse métabolique de la proline est non significative sous l'effet des doses 1 et 2 par rapport au témoin. Parallèlement, sous l'effet des doses (2, 3) et (3, 4) l'augmentation de la proline est la même. Cependant, l'augmentation de la proline est très hautement significative ($p \leq 1\%$) sous l'effet de la dose 5. L'effet du stress provoqué sur les trois variétés W, Vit et Sém montre que la synthèse de la proline (acide aminé du stress) est stimulée dans les feuilles et dans les racines de façon différente. Au niveau des feuilles, l'augmentation de la proline est très hautement significative sous l'effet des doses appliquées dans l'expérimentation. Contrairement, au niveau des racines, la synthèse de la proline augmente de façon très hautement significative à partir d'un certain seuil du stress salin c'est-à-dire que la rétention d'eau causée par le sel au

Tableaux.9 : Détermination du poids frais des feuilles

Génotype	Répétition	Témoin	1 mM	3 mM	5 mM	6 mM	8 mM
Waha	R1	1,56	1,40	1,40	1,20	1,05	0,76
	R2	1,50	1,42	1,41	1,25	1,01	0,70
	R3	1,54	1,42	1,41	1,24	1,04	0,72
Sémito	R1	0,98	0,86	0,77	0,67	0,61	0,30
	R2	0,90	0,88	0,8	0,78	0,75	0,31
	R3	1,01	0,85	0,73	0,64	0,62	0,35
Vitron	R1	2,05	1,73	1,63	1,52	0,76	0,40
	R2	2,08	1,72	1,62	1,54	0,77	0,47
	R3	2,13	1,76	1,61	1,54	0,74	0,42

Tableaux.10 : Détermination du poids frais des racines

Génotype	Répétition	Témoin	1 mM	3 mM	5 mM	6 mM	8 mM
Waha	R1	5,33	4,05	3,14	2,95	2,33	2,13
	R2	5,2	4,01	3,1	2,91	2,25	2,09
	R3	5,12	4,02	3,05	2,87	1,21	0,78
Sémito	R1	3,09	2,75	2,55	2,26	1,24	0,65
	R2	3,14	2,81	2,57	2,28	1,25	0,70
	R3	3,12	2,77	2,53	2,3	2,27	1,85
Vitron	R1	4,47	4,39	3,06	2,5	1,65	1,31
	R2	4,52	4,42	3,01	2,47	1,43	1,33
	R3	4,42	4,39	3,12	2,14	1,75	1,23

niveau des racines est probablement plus tolérée que celle causée au niveau des feuilles. A l'échelle cellulaire, la proline est un acide aminé qui change l'orientation de la protéine d'un sens vers un autre ; la perturbation de la proline par le stress salin est probablement la cause de la perturbation des protéines structurales et fonctionnelles d'où l'abaissement de la taille des feuilles et donc la diminution de la quantité de la matière fraîche des échantillons des deux variétés.

Les résultats obtenus des protéines totales chez la variété W montrent que sous l'effet des doses 1,4 et 5 la synthèse des protéines au niveau des feuilles est très hautement significative, tandis que sous l'effet des doses 2 et 3, la diminution des protéines est non significative par rapport au témoin. Au niveau des racines, les doses (1,2) et (3, 4) provoquent la même réponse donc elles ont le même effet. Cependant, la dose 5 induit une diminution très hautement significative. Chez la variété Vit, la synthèse des protéines diminue de façon très hautement significative ($p \leq 1\%$) au niveau des feuilles ; par ailleurs les doses (1,2) et (3,4) présentent le même effet contrairement à la dose 5. Dans le système racinaire, la réponse au stress salin est similaire à celle des feuilles. Ceux-ci peuvent expliquer, que la translocation dans cette variété assure le passage du stress des racines vers les feuilles sans aucune accumulation au préalable dans les racines. Chez la variété Sém, la synthèse des protéines totales dans les feuilles diminue de façon très hautement significative ($p \leq 1\%$) surtout pour les doses 1, 2 et 5 ; alors que, les doses 3 et 4 présentent le même effet. Dans les racines, l'abattement des protéines totales est très hautement significative ($p \leq 1\%$) avec les doses (1,2) et (4,5) qui donnent le même effet. Tandis que pour la dose 3, la réponse est similaire au témoin. Chez les variétés W et Sém l'addition des effets des doses au niveau des racines induisent la même réponse qui peut être probablement due à la sensibilité des racines vis-à-vis du stress salin. La diminution des protéines totales au niveau des deux compartiments (feuilles et racines) peut être expliquée, par le fait que, le sel induit chez les trois variétés une inhibition des protéines fonctionnelles (les enzymes) ce qui diminue progressivement la synthèse des sucres complexes de structure (la cellulose).

En ce qui concerne les résultats des sucres solubles, il a été constaté une augmentation progressive et très hautement significative ($p \leq 1\%$) pour les doses testées de NaCl au niveau des feuilles et des racines (Fig.). Ceux-ci peuvent expliquer le phénomène biochimique qui s'est déroulé sous l'effet du stress salin ; l'accroissement des concentrations des sucres solubles est le résultat de la dégénérescence du squelette végétale provoqué probablement par l'excès de NaCl. Cependant, la rétention d'eau engendrée par ce dernier est responsable de l'accumulation des sucres à l'extérieur de la cellule et donc probablement déclencher le processus du « feed back » négatif. L'analyse de la chlorophylle par chromatographie sur couche mince (C.C.M) n'a pas donnée dans notre cas des variations significatives de vitesse de migration pour les six doses testées. Ce résultat ne permet pas de montrer l'effet du stress salin sur la migration des quatre variantes de la chlorophylle (Chl a ; Chl b ; Chl a+b et les caroténoïdes).

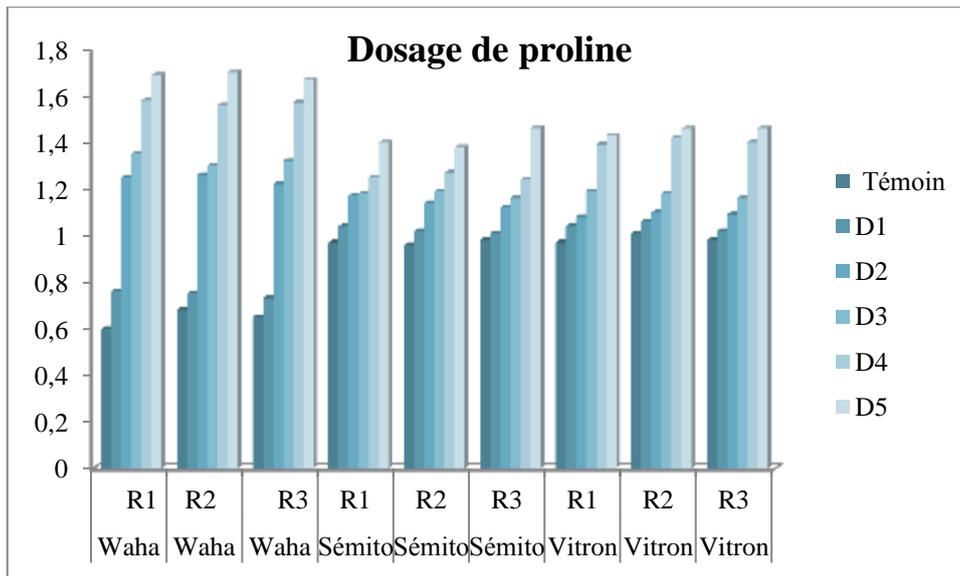


Fig.22 : L'effet de NaCl sur l'accumulation de proline dans les feuilles. (Mouasse, 2013)

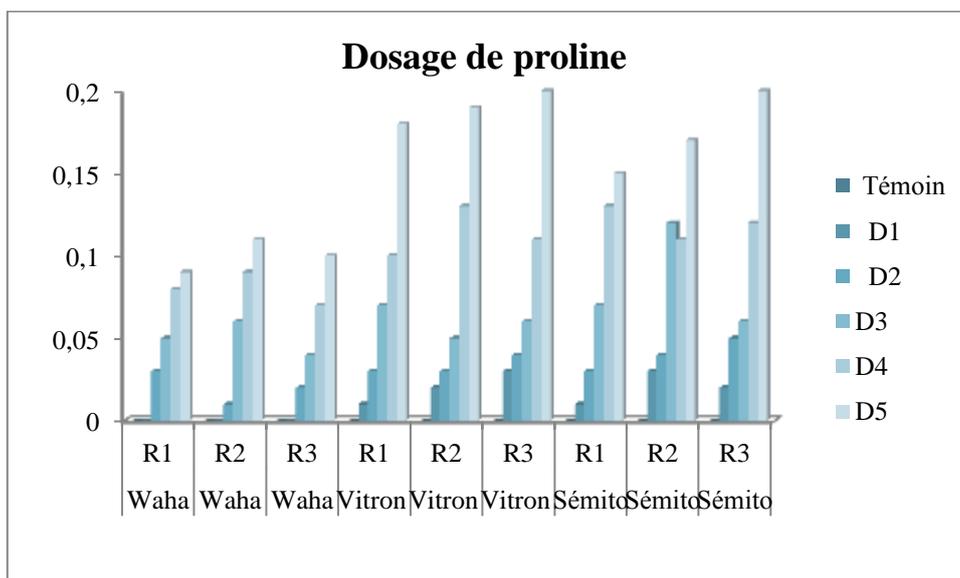


Fig.23 : L'effet de NaCl sur l'accumulation de proline dans les racines. (Mouasse, 2013)

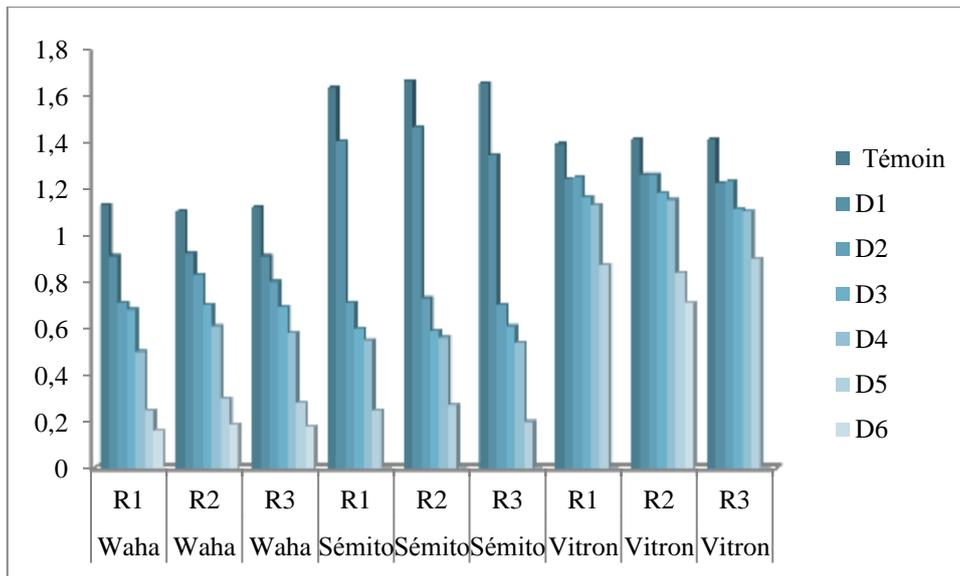


Fig.24 : L'effet de NaCl sur les protéines totales des feuilles. . (Mouasse, 2013)

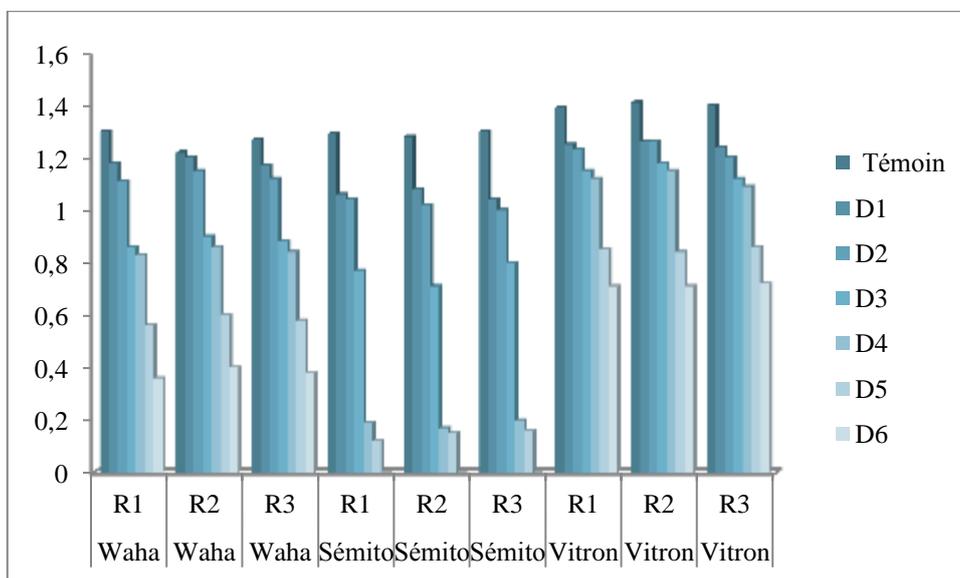


Fig.25 : L'effet de NaCl sur les protéines totales des racines. . (Mouasse, 2013)

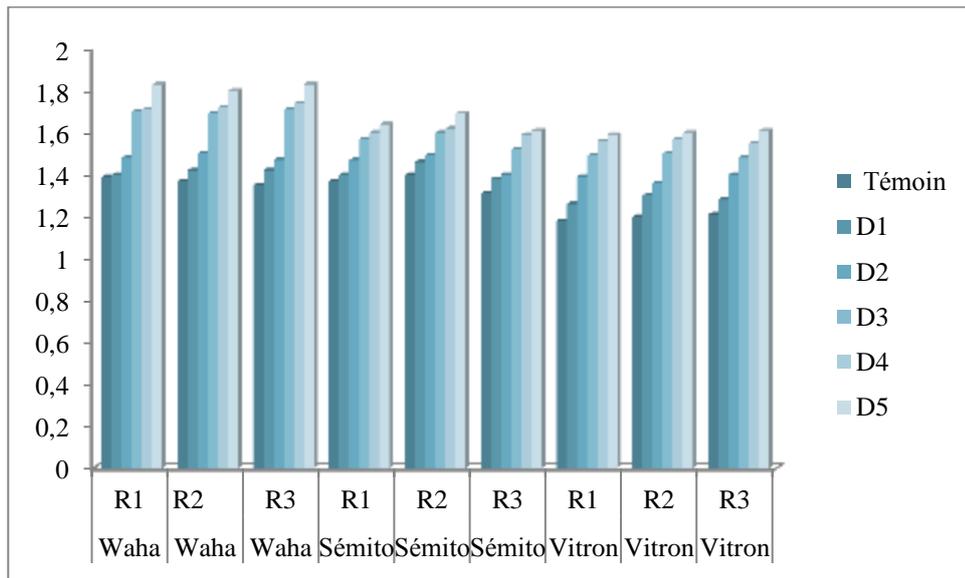


Fig.26 : L'effet de NaCl sur les sucres solubles des feuilles. . (Mouasse, 2013)

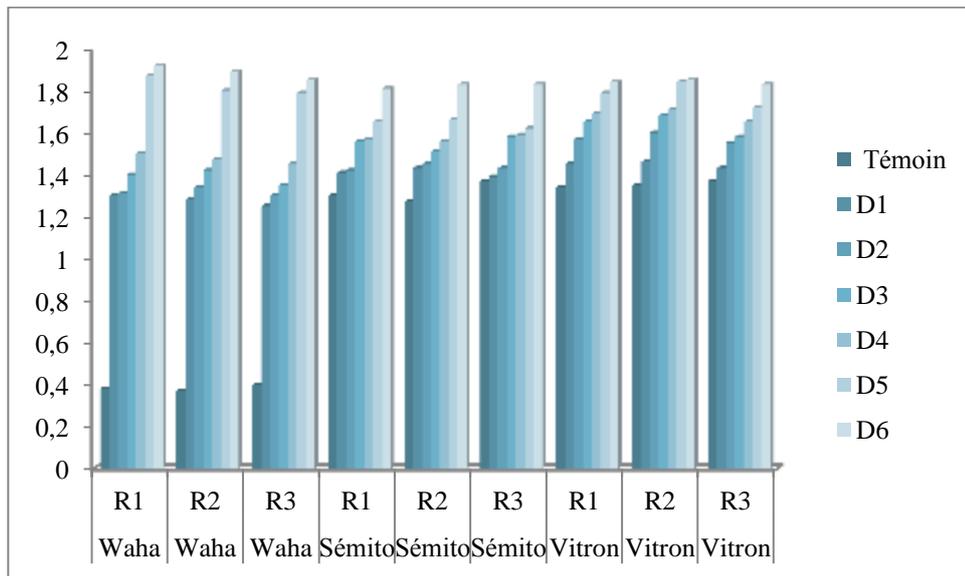


Fig.27 : L'effet de NaCl sur les sucres solubles des racines. . (Mouasse, 2013)

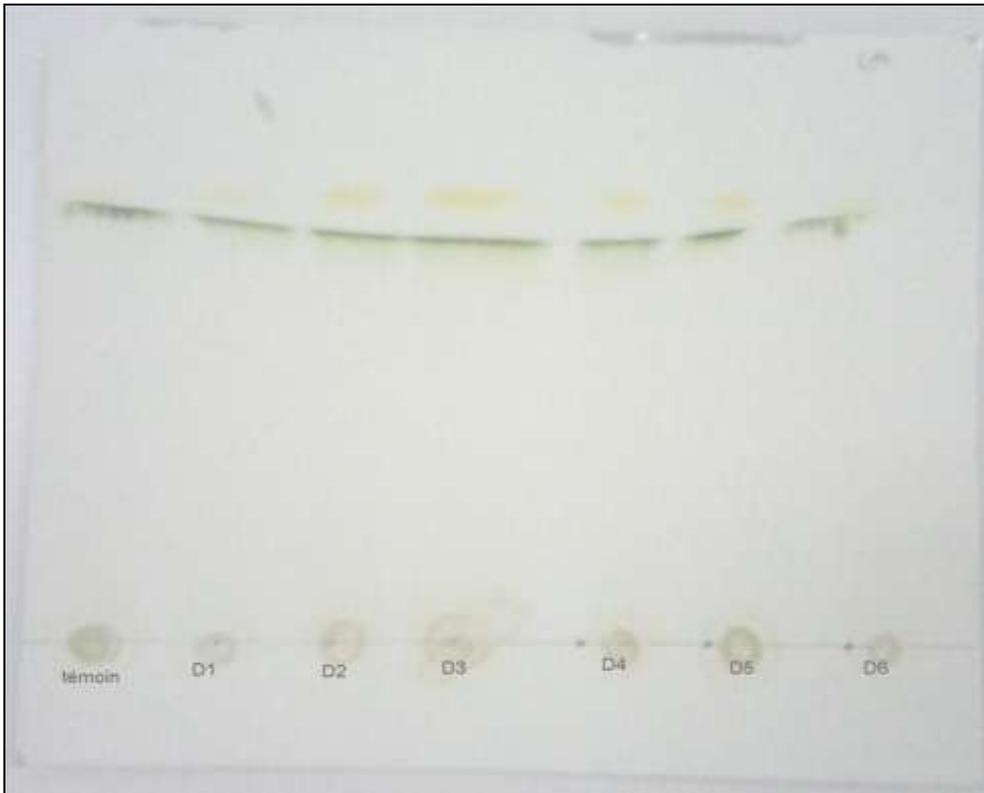


Fig. .28 : La migration de la variété W(Aidaoui , 2013)

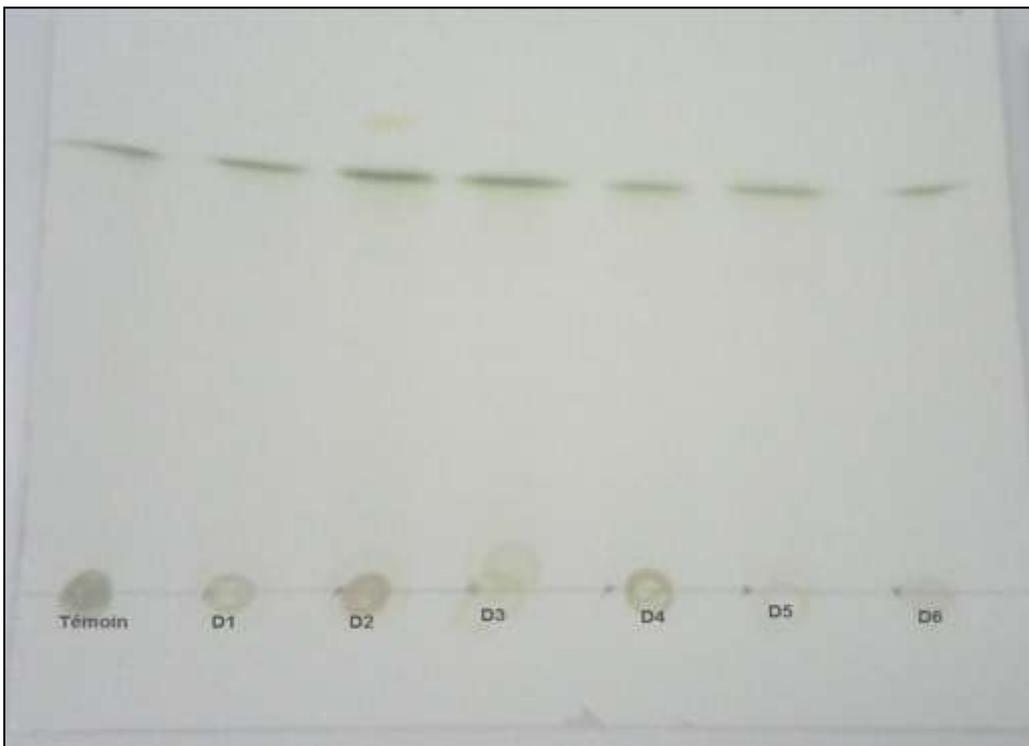


Fig. .29 : La migration de la variété Sém. (Aidaoui , 2013)

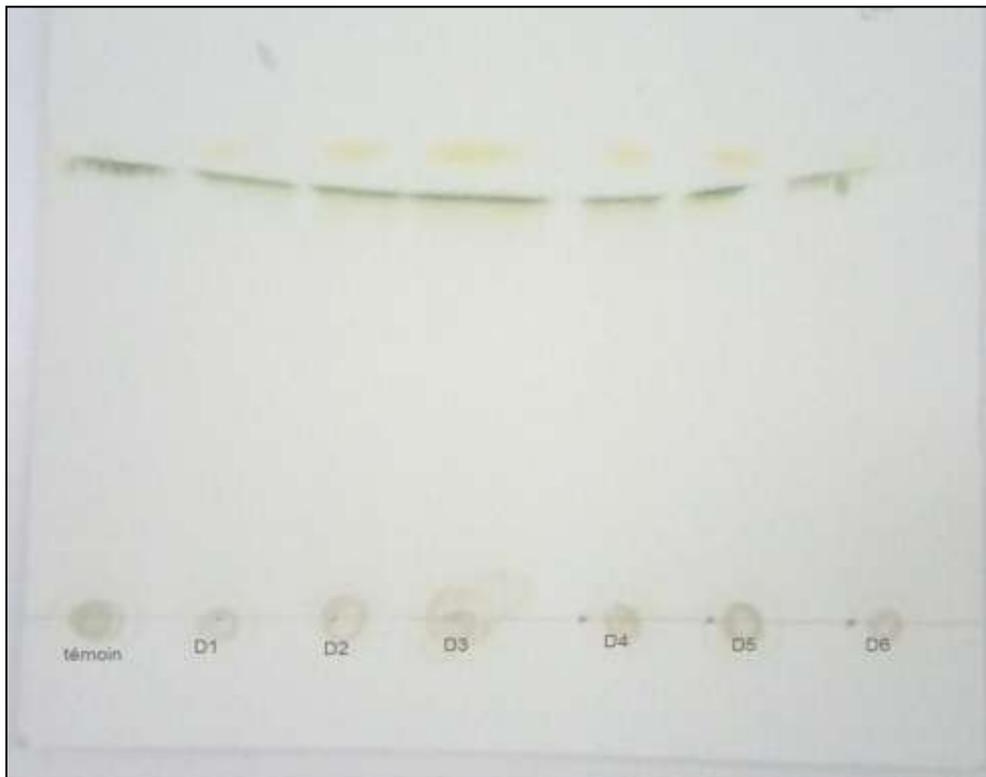


Fig. .30 : La migration de la variété Vit. (Meguellatni, 2013)

3- Conclusion

L'étude de la réponse au stress salin chez les trois variétés de blé dur (Sémito, Vitron et Waha) testées révèle l'existence d'une grande variabilité pour la plupart des paramètres mesurés. L'effet du stress salin est bien marqué entre les génotypes témoins et leurs stressés dans l'expérimentation.

Nous avons étudié la réponse de ces trois variétés de blé dur au stress salin (1, 3, 5, 6, 8 et 10mM de NaCl), par analyse comparative de quelques paramètres morphologiques, physiologiques et biochimiques. On a pu observer que le pourcentage de germination diminue significativement avec l'augmentation de la concentration en NaCl. La longueur des feuilles et du système racinaire des trois variétés est un bon indicateur de l'état hydrique, elle diminue légèrement chez les plantes stressées à la salinité. Les résultats montrent que le poids frais des feuilles (PFF) et des racines (PFR) diminue significativement avec l'augmentation de la concentration en NaCl. Néanmoins la variété Sém est plus sensible à la salinité que les deux autres variétés étudiées (W et Vit). Au niveau des feuilles, l'augmentation de la proline et sucre solubles est très hautement significative sous l'effet des doses appliquées dans l'expérimentation. Contrairement, au niveau des racines, la synthèse de la proline augmente de façon très hautement significative à partir d'un certain seuil du stress salin. La diminution des protéines totales au niveau des deux compartiments (feuilles et racines) peut être expliquée, par le fait que, le sel induit chez les trois variétés une inhibition des protéines fonctionnelles (les enzymes) ce qui diminue progressivement la synthèse des sucres complexes de structure (la cellulose). La CCM réalisée pour nos échantillons s'est avérée sans aucune modification sur la variante de la chlorophylle.

En fin, l'étude a montré que les trois variétés étudiées ont utilisés les mêmes stratégies de la réponse au stress salin mais avec des fréquences différentes. Ces critères peuvent être utilisés comme paramètres de sélection et d'amélioration du rendement de blé dur dans les régions aride.

Références Bibliographiques

Allah CR. Grown, 1999. Tomato under saline conditions. In : Allah CR, ed. Plant Salinity. Research, New Challenges, p : 201-1203.

Allagui MB ; Andreotti VC ; Cuartero J, 2005. Détermination de critères de sélection pour la tolérance de la tomate à la salinité. À la germination et au stade plantule. Ann INRAT. 67, p : 45-65.

Bajji M, 1999. Étude des mécanismes de résistance au stress hydrique chez le blé dur. Caractérisation de cultivars différant par leurs niveaux de résistance à la sécheresse et de variants somaclonaux sélectionnés In vitro. Thèse de doctorat. Univ. Louvain.

Bensari M ; Calme S.J. & Viala G, 1990. Répartition du carbone fixé par photosynthèse entre l'amidon et le saccharose dans la feuille de soja : influence d'un déficit hydrique : Plant physiol. Biochimie. 28, p: 113-124.

Bonnet O .T, 1936. The development of the wheat spike. Jour. Agric. Res. 53, p : 445- 450.

Bootsma A ; Boisvert J.B., Dejong R. & Baier W ,1996. La sécheresse et l'agriculture canadienne. Sécheresse, p : 277 - 285.

Boyer J.S, 1982. Plant productivity and environment. Sci, New series. 218, p: 443 – 448.

Bozzini A, 1988. Origin, distribution and production of durum wheat in the world. In Fabiani G. & Lintas C. (éd). Durum: Chemistry and Technology. AACCC (Minnesota). Etats-Unis, p : 1-16.

Campalans A ; Messeguer R ; Goday A. & Pagès M, 1999. Plant responses to drought, from ABA signal transduction events to the action of the induced proteins. PlantPhysiol. Biochem. 37. 5, p : 327 - 340.

Chaib G, 1998. Teneur en proline chez les différents organes de blé dur (*Triticum durum* Desf) : Essai d'explication des conditions d'accumulation sous manque d'eau. Thèse de magister. Univ. Constantine.

Chaise L ; Ferla A. J ; Honore A. & Moukhli R, 2005. L'impact du changement climatique sur l'agriculture en Afrique. Atelier Changement Climatique. ENPC.

Cheftel J.C. & Cheftel H, 1992. Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments. V1. Tec & Doc. Paris .Lavoisier, p: 381.

CIA, 2002. Conseil international des céréales. International Grains Council. World Grains Statistics, p: 13-17.

Clark J.M; Norvell W.A; Clark F.R & Buckley T.W, 2002. Concentration of cadmium and other elements in the grain of near-isogenic durum lines. Can. J.Plant Sci. /Revue canadienne de phytotechnie. 82, p: 27-33.

Debaeke P ; Cabelguenne M ; Casals ML & Puech J, 1996. Élaboration du rendement du blé d'hiver en conditions de déficit hydrique. II. Mise au point et test d'un modèle de simulation de la culture de blé d'hiver en conditions d'alimentation hydrique et azotée variées. *Epicphase-blé. Agronomie*.16, p: 25 - 46.

Déjardin A; Sokolov L.N & Kleczkowski L.A, 1999 .Sugar/osmoticum levels modulate differential abscisic acid-independent expression of two stress- responsive sucrose synthesis genes in Arabidopsis. *Biochem J*. 344, p: 503 -509.

Dubois M; Gilles K.A; Hamilton P.A; Ruberg A & Smith F, 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*.28.3, p: 350-356.

El Jaafari S, 1993. Contribution à l'étude des mécanismes biophysiques et biochimiques de résistance à la sécheresse chez le blé. Thèse de doctorat. Univ Gembloux. Belgique, p: 214.

Feillet P, 2000. Le grain de blé : composition et utilisation. INRA. Paris.

Garcia-Legaz MF ; Ortiz JM ; Garcia-Lidon A ; Cerda A, 1993. Effect of salinity on growth, ion content and CO₂ assimilation rate in lemon varieties on different rootstocks. *Physiologia Plantarum*. 89, p : 427-430.

Gate P ; Bouthier A ; Casabianca H & Deleens E, 1993.Caractères physiologique décrivant la tolérance à la sécheresse des blés cultivés en France: interprétation des corrélations entre le rendement et la composition isotopique du carbone des grains. Colloque Diversité génétique et amélioration variétale Montpellier (France). Les colloques. 64. Inra. Paris.

Geigenberger P; Reimholz R; Geiger M; Merlo L; Canale V & Stitt M, 1997. Resolution of sucrose and starch metabolism in potato tubers in response to short-term water deficit. *Planta*. 201, p: 502 -518.

Greenway H; Munns R , 1980. Mechanisms of salt tolerance in non-halophytes. *Annu. Rev. Plant physiol.* **31**, p: 149-190.

Haloui.F, 2011.Etude comparative des rendements brut en semoule de 21 variétés de blé dur cultivées Durant l'année 2003/2004. Mémoire de master, Univer. Guelma.

Hamdy A, 1999. Saline irrigation and management for a sustainable use. In: Advanced Short Course on Saline Irrigati on Proceeding, Agadir. P: 152-227.

Hare P.D; Cress W.A, 1997. Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. *Plant cell and environment*. 21, p: 535 - 553.

Hayek T ; Abdelly C, 2004. Effets de la salinité sur l'état hydrique foliaire, la conductance stomatique, la transpiration et le rendement en grains chez 3 populations de mil (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.). *Revue des Régions Arides*, Tome 1, No. Spécial: 273-284.

- INRA, 2000.** La résistance des plantes à la sécheresse. Centre de Montpellier.
- James B ; Beard, 1982.** Turf Management for golf courses, Macmillan Publishing, p : 642.
- 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.
- Laberche J-C, 2004.** La nutrition de la plante In Biologie Végétale. Dunod. 2e (éd). Paris, p: 154 -163.
- Madhava; Rao K.V; Raghavendra A.S; Janardhan Reddy K, 2006.** Printed in the Netherlands. Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants. Springer, p: 1-14.
- Mallek-Maalej E ; Boulasnem F ; Ben Salem M, 2004.** Effet de la salinité sur la germination de graines de céréales cultivées en Tunisie. Cahiers Agriculture. 12, p : 153-6.
- Messedi D ; Abdelly C, 2004.** Physiologie de la tolérance au sel d'une halophyte de recouvrement: *Batis maritima*. Revue des Régions Arides, Tome 1, No spécial. p: 192-199.
- Mouhouche B ; Boulassel A, 1997.** Gestion rationnelle des irrigations des compléments des cultures des légumineuses alimentaires et céréales. Recherche agronomique. INRA.1, p:21-31.
- Munns R, 2002.** Comparative physiology of salt and water stress. Plant Cell and Environment, Vol. 25.p: 239-250.
- Ober S; Sharp P, 1994.** Polyphasic chlorophyll fluorescence transients in plants and cyanobacteria. Photosynthesis research. 29, p: 147 -150.
- Rachidai A ; Driouich A ; Ouassou A ; El Hadrami I, 2000.** Effet du stress salin sur la germination du blé dur (*Triticum durum* Desf.). Rev Amélior Prod Agr Milieu Aride. 6, p : 209-211.
- Rasio A; Sorrentinio G; Cedola M.C; Pastore D; Wittner G, 1987.** Osmotic and elastic adjustment of durum wheat leaves under stress conditions. Genetic Agr. 41, p: 427 – 436.
- Samaras Y; Bresson R.A; Csonka L.N; Garcia-Rios M.G; Paino D'Urzo M; Rhodes D, 1995.** Proline accumulation during drought and salinity. In: Sminoff N. Environment and plant metabolism, flexibility and acclimation. Oxford BIOS.161, p: 79- 88.
- 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, p: 13 -19.

Schulze E-D; Beck E; Müller-Hohenstein K, 2005. Plant ecology. Springer. Berlin, p: 117-143.

Soltner D, 1998. Les grandes productions végétales : céréales, plantes sarclées, prairies. Sainte-Gemme-sur-Loire, Sciences et Techniques Agricoles.

Triboï E, 1990. Modèle d'élaboration du poids du grain chez le blé tendre. Agronomie. 10, p: 191- 200.

Site Web.

[1]- **Slama A; Ben Salem M; Ben Naceur M; Zid E.D, 2005.** Les céréales en Tunisie : production, effet de la sécheresse et mécanismes de résistance. Institut national de la recherche agronomique de Tunisie (Inrat). Univ. Elmanar. Tunisie. (http://www.john-libbey-eurotext.fr/fr/revues/agro_biotech/sec/e-docs/00/04/11/2E/telecharger.md). (19-02-2013).

[2]- **FAO, 2007.** Perspective alimentaires. Analyse des marchés mondiales. <http://www.fao.org/010/ah864f/ah864f00.htm>. (02.03.2013/13:28).

[3]- **MMB, 2006.** Les marchés mondiaux du blé. USDA. http://www.agpb.com/fr/dossier/eco/marchesmondiaux_2006.pdf. (25.02.2013/11:37).

[4]- **Anonyme, 2008.** L'Algérie couvre seulement 25 % de ses besoins en céréales. <http://www.liberte-algerie.com/edit.php?id=102098&titre=L'Algérie%20couvre%20seulement%2025%%de%20ses%20en%20céréale> (02.03.2013).

[5] **Chellali B, 2007.** Marché mondial des céréales: L'Algérie assure sa sécurité Alimentaire <http://www.lemaghreb.dz.com/admin/folder01/une.pdf>. (27.02.2013).

Résumé:

L'objectif de ce travail est de comparer la réponse du blé dur au stress salin de trois génotypes de blé dur (*Triticum durum*) : Virton, Waha et sémito. Nous avons étudié les différents paramètres morphologiques (longueur des feuilles et des racines et le pourcentage de germination), physiologiques (quantité de matière fraîche des feuilles et des racines) et biochimiques (teneur en proline, en sucres solubles et en protéines totales) sous l'effet de six niveaux d'irrigation (1, 3, 5,6, 8 et 10 mM de NaCl). Le choix des niveaux d'irrigation est appliqué au stade 2^{ème} feuille. Les résultats obtenus montrent que le stress salin a entraîné une réduction de la longueur des feuilles et des racines, le taux de germination, et une accumulation de la proline, des sucres solubles et diminution des protéines totales.

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

Mots clés : Stress salin, blé dur, morphologie, proline, anti-oxydant.

Summary:

The objective of this work is to compare the response of durum wheat to salt stress of three genotypes of durum wheat (*Triticum durum*): Virton, Waha and sémito. We studied the different morphological parameters (length of the leaves and roots and the percentage of germination), physiological (quantity of fresh material leaves and roots) and biochemical (proline content, soluble sugars and total protein) in the effect of six levels of irrigation (1, 3, 5,6, 8 and 10 mM NaCl). The choice of levels of irrigation is applied to the second leaf stage. The results show that salt stress resulted in a reduction of the length of the leaves and roots, germination rate, and accumulation of proline, soluble sugars and decrease in total protein.

In conclusion, the study showed that salt stress causes the same mechanisms of response in the three genotypes, but to different degrees.

Keywords: Stress salt, durum wheat, morphology, proline, antioxidant.

ملخص:

الهدف من هذا العمل هو المقارنة بين استجابة القمح الصلب في الإجهاد الملحي لثلاثة أنماط جينية من القمح الصلب: Waha، Vitron، و sémito. درسنا مختلف الخصائص المورفولوجية (طول الأوراق والجذور ونسبة الإنبات) والفسيلوجية (كمية الأوراق والجذور) والبيوكيميائية (محتوى البرولين والسكريات الذائبة والبروتين الكلي) في تأثير ستة مستويات من الري (1، 3، 5، 6، 8 و 10 ملي مول كلوريد الصوديوم). يتم تطبيق اختيار مستويات من الري إلى المرحلة الثانية من التوريق. وتبين النتائج أن الإجهاد الملحي أدى إلى الحد من طول الأوراق والجذور، ومعدل الإنبات، وتراكم البرولين والسكريات الذائبة وانخفاض في البروتين الكلي. في الختام، أظهرت الدراسة أن الإجهاد الملحي يسبب نفس آليات الاستجابة في المورثات الثلاثة، ولكن بدرجات مختلفة.

كلمات البحث: الإجهاد الملحي، القمح الصلب، مورفولوجيا، البرولين، ومضادات الأكسدة.