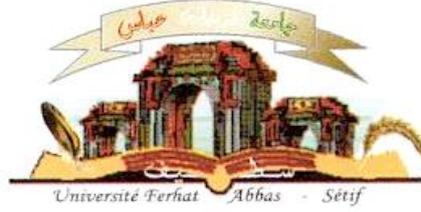


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

UNIVERSITE FERHAT ABBAS SETIF1
FACULTE DES SCIENCES DE LA
NATURE ET DE LA VIE



جامعة فرحات عباس، سطيف 1-
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET ECOLOGIE VEGETALE

N°.../SNV/2015

THÈSE

Présentée par : **HAMLI Sofia**

Pour obtenir le diplôme de **Doctorat en Sciences**

Option : Biologie végétale

THÈME

Étude de la tolérance du blé dur (*Triticum turgidum* L. var. *durum*) au choc thermique: criblage des plantules et déterminisme génétique de la tolérance

Soutenue publiquement le 14/12/2015

Devant le Jury

PRESIDENT	LAOUER	Hocine	Pr. Université	Sétif 1
RAPPORTEUR	BOUZERZOUR	Hamenna	Pr. Université	Sétif 1
EXAMINATEUR	BENMAHAMMED	Amar	Pr. Université	Sétif 1
EXAMINATEUR	BAHLOULI	Fayçal	Pr. Université	M'Sila
EXAMINATEUR	YAHIA	Abdelwahab	Pr. Université	Mila
EXAMINATEUR	HAZMOUNE	Tahar	MCA Université	Skikda

Année universitaire 2014/2015

Remerciements

Louanges à Dieu le tout puissant et le miséricordieux qui a guidé mes pas vers cette issue. Je remercie mon directeur de thèse le professeur **Bouzerzour Hamenna** qui a accepté avec toute modestie de m'encadrer, malgré ses multiples charges, tout le long de ces années d'études. Je le remercie pour son aide, sa patience, ses conseils précieux qui ont conduit à l'achèvement ce travail. Qu'il trouve ici l'expression mon plus profond respect et ma profonde gratitude.

C'est avec beaucoup de gratitude que je remercie les Professeurs : **Laouer Houcine**, qui m'a fait l'honneur de présider le jury, **Benmahammed Amar**, **Yahia abdelwaheb**, **Bahlouli Fayçal** et **Hazmoum Tahar** qui m'ont fait l'honneur de faire partie du jury, et qui ont accepté de juger ce travail.

Je veux adresser tous mes remerciements aux professeurs **Abdelwahed Rabha** Directeur du Centre Régional De La Recherche Agronomique De Rabat, **Iraqi Driss** Coordinateur de l'Unité de Recherche en Biotechnologie INRA RABAT et **Mostapha Labhilili** Maître de Recherche De l'Unité de Recherche de Biotechnologie d'avoir accepté m'acceuilir à l'INRA. Je souhaite également remercier Mme **Taghouti Mouna**, Mme **Gaboun Fatima**, Mme **Bentata Fatiha** et Mr **Kamar Mostapha** pour leur aide et les moyens matériels qu'ils ont mis à ma disposition au Centre Régional De La Recherche Agronomique De Rabat Maroc.

Je remercie Mademoiselle **Khaznadar Mouna** pour son aide et sa gentillesse. Merci aussi à tous mes collègues de la faculté des sciences de la nature et de la vie à Khenchela et surtout mes meilleures amis **Nassera**, **Kenza**, **Dalila** , **Dounia**, **Naasa**, **Nawel**, **Wahiba**, **Fatimazohra Kenza**, **zahira** et ma promotion de Magister **Farah**, **Hinda**, **Karima**, **Nabila**, **Karima** et **Hajer** ainsi que mes amis du laboratoire de l'unité de Biotechnologie à l'INRA, Rabat : **Rajae Menzeri**, **Meryeme Alyadini** et **Meryeme Belfakih** pour leur aide.

Ma reconnaissance va aussi à mon époux **Djoubir**, Je le remercie pour son aide et sa patience, et en Particulier à mes petits poussins **Kheled**, **Falah** et **Maher** pour leur patience et leur amour. Je clos enfin mes remerciements en dédiant cette thèse de Doctorat à mes parents et particulièrement à mon défunt Père, ma belle mère, mes frères et soeurs et ma toute famille.

Sofia

Résumé

Les caractères qui favorisent l'adaptation sont nombreux et variables en fonction des environnements. Dans ce contexte la sélection assistée par des approches physiologiques s'impose comme une alternative incontournable. Plusieurs caractères physiologiques et biochimiques sont proposés dans le but de distinguer les variétés sensibles des variétés résistantes au stress. La présente contribution se fixe pour objectifs d'évaluer la réponse des plantules de variétés contrastées de blé dur (*Triticum turgidum* L. var. *durum*) au choc thermique et d'analyser le déterminisme génétique des caractères liés à la tolérance du stress. Les résultats de l'étude portant sur l'analyse de la capacité de discrimination des tests physiologiques appliqués aux génotypes de blé dur (*Triticum durum* Desf.) soumis au choc thermique au stade plantule et les liaisons avec les indices de tolérance des stress du rendement grain indiquent la présence de la variabilité de réponses de huit variétés évaluées. Le choc thermique induit l'expression de nouvelles protéines de choc thermique et réprime celles exprimées en absence de stress. Le stress induit l'augmentation de la proline, des sucres solubles ainsi que le % de dommages à la membrane plasmique, par contre le ratio Fv/Fm, la teneur relative en eau, la longueur du coléoptile, le contenu en chlorophylle, et la surface foliaire diminuent. Les réponses des génotypes varient selon l'intensité du stress. Différents génotypes ont été classés comme tolérants sur la base de ces paramètres. Korifla tolérant sur la base de la proline, des sucres solubles, et la reprise de l'élongation foliaire. Bousselam est classé comme tolérant sur la base de la teneur relative en eau, la stabilité membranaire et le contenu en chlorophylle. Waha est classé comme tolérant sur la base du ratio Fv/Fm. L'indice P identifie trois génotypes comme étant stables et performants. L'analyse des corrélations indique que les liaisons entre les paramètres physiologiques et avec les indices de tolérance varient en fonction de l'intensité du stress. Cependant le ratio Fv/Fm présente des liaisons stables avec l'indice P, ce qui suggère que ce paramètre physiologique peut être recommandé pour le criblage précoce des génotypes tolérants au stress thermique. L'analyse du déterminisme génétique de la teneur relative en eau, de la perte d'eau des feuilles excisées, de la surface de la feuille étendard et la stabilité membranaire de la F3 indique la présence de la variabilité génotypique pour ces caractères, ce qui justifie l'analyse génétique. La présence de transgresseurs est notée pour l'ensemble des caractères analysés, à des fréquences variables. L'héritabilité au sens large et le gain génétique présentent des valeurs moyennes à élevées. Dans l'ensemble, les résultats obtenus indiquent que la population créée par croisement est intéressante pour le programme d'amélioration et que des progrès significatifs peuvent être réalisés suite à la sélection sur la base de ces caractères d'ordre morpho-physiologiques pour améliorer la tolérance des stress et le potentiel de rendement

Mots clés : *Triticum durum*, teneur relative en eau, coléoptile, fluorescence, indice P, protéines de choc thermique, plantules, héritabilité, gain génétique.

Summary

Traits favoring plant adaptation are numerous and variable between environments. In this context selection assisted by physiological approaches become an attractive alternative. Several physiological and biochemical traits are proposed to be able to discriminate between stress tolerant and stress sensible varieties. The present investigation targeted the objectives to evaluate the response of the seedling of contrasted durum wheat varieties (*Triticum turgidum* L. var. *durum*) subjected to heat shock and to analyze the genetic determinism of the traits associated with stress tolerance. The results of the study investigating the discriminating ability of physiological screening tests applied to durum wheat lines (*Triticum durum* Desf.) subjected to heat shock at the seedling growth stage and to study their relationships with grain yield stress tolerance indices indicated sufficient amount of variability in the responses of the eight durum wheat genotypes evaluated. Heat shock increased the expression of new heat shock proteins and repressed those expressed in the absence of stress. Heat shock effect increased proline, soluble sugars and damage to cell membrane while Fv/Fm ratio, relative water content, coleoptile length, chlorophyll content, and leaf area were decreased. Genotype responses varied according to stress intensity. Different genotypes were classified as tolerant to stress based on different parameters. Base on proline, soluble sugars and leaf regrowth results, Korifla was identified as stress tolerant. Bousselam was declared stress tolerant based on relative water content, membrane stability, chlorophyll content results. Waha was tolerant based on Fv/Fm ratio. P index elected three varieties as stable and high yielding. Correlations study indicated that the relationships between physiological parameters and with tolerance indices varied according to stress levels. However Fv/Fm ratio was consistently correlated with P index suggesting that this physiological trait could be recommended for early screening of genotypes tolerant to heat stress. The study of the inheritance pattern of relative water content, excised leaf water loss, flag leaf area and membrane stability, in the F3-population reflected a satisfactory range of variability in the evaluated traits, justifying the genetic analysis. Transgressors, with variable frequencies, were observed for all the measured traits. Medium to high broad sense heritability and genetic gain, expressed as percent of the base population mean, estimates were noted for the measured traits. Altogether, the obtained results indicated that the studied cross population would be of interest in the breeding program and an effective progress can be made through selection of these morpho-physiological characters to enhance stress tolerance and grain yield potential.

Key words: *Triticum durum*, relative water content, coleoptile, fluorescence, P index, heat shock proteins, seedlings, heritability, genetic gain.

ملخص

تتميز الصفات التي تعزز التأقلم بكثرتها و اختلافها حسب الأوساط. حيث يعتبر الانتخاب باستعمال الصفات الفيزيولوجية و البيوكيميائية الاختيار الأمثل. أخذت بعين الاعتبار العديد من هذه الصفات في التمييز بين الأصناف الحساسة للاجهاد و الأصناف المقاومة. تهدف هذه الدراسة الى تقييم استجابة بادرات أصناف مختلفة من القمح الصلب للاجهاد الحراري وتحديد الصفات المرتبطة بالتحمل و المقاومة للاجهاد. أظهرت النتائج التي تمحورت حول قدرة المؤشرات الفيزيولوجية المطبقة على التمييز بين اصناف من القمح الصلب تحت الاجهاد في طور البادرة و علاقتها بمؤشرات التحمل للاجهاد الخاصة بالمرود الحبي وجود اختلافات في استجابة الأصناف الثمانية المدروسة. أدى الاجهاد الى ظهور بروتينات جديدة لتحمل الاجهاد وتثبيط البروتينات التي كانت تظهر في غيابه. أدى الاجهاد أيضا الى زيادة في كل من البرولين السكريات الذائبة و نسبة الخلايا المتحطمة في حين تراجعت النسبة Fv/Fm المحتوى النسبي المائي طول الكوليوبنيل' محتوى اليخضور و المساحة الورقية. تغيرت استجابة الأصناف بتغير الاجهاد. أصناف مختلفة صنف مقاومة على أساس هذه المعايير. يعتبر *korifla* صنفا مقاوما على أساس البرولين' السكريات الذائبة و استعادة الاستطالة الورقية' *Boussalem* يعتبر صنفا مقاوما على أساس المحتوى المائي الورقي ثبات الأغشية و المحتوى من الكلوروفيل. *Waha* تعتبر صنفا مقاوما على أساس النسبة Fv/Fm . أظهر المؤشر P ثلاثة أصناف ذات مردود معتبر وثابت. يبين تحليل الارتباطات أن الارتباط بين المعايير الفيزيولوجية و مؤشرات التحمل تتغير حسب الاجهاد. أظهرت النسبة Fv/Fm ارتباطا ثابتا بمؤشر P و هذا يشير الى أنه يمكن الأخذ بعين الاعتبار هذا المعيار الفيزيولوجي في الانتخاب المبكر للأصناف المتحملة للاجهاد. تشير الدراسة الوراثية للمحتوى المائي الورقي' فقد المائي الورقي' مساحة الورقة و ثبات الأغشية للجيل الثالث الى وجود تباين وراثي لهذه الصفات. تتغير نسب درجة التوريث و الربح الوراثي من متوسطة الى مرتفعة. تشير النتائج المتحصل عليها الى أن الفئة الناتجة من التهجينات ذات أهمية بالغة لبرنامج التحسين و أنه يمكن انتخاب أصناف متحملة للاجهاد و ذات مردود معتبر على أساس المعايير المرفوفيزيولوجية.

كلمات مفتاحية محتوى مائي ورفي' كوليوبنيل' مؤشر P , fluorescence, بروتينات الاجهاد الحراري' بادرة'

درجة التوريث' ربح وراثي. *Triticum durum* Desf.

SOMMAIRE

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

INTRODUCTION GENERALE.....	01
CHAPITRE I. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.....	05
1. HISTORIQUE DU BLÉ DUR (<i>Triticum turgidum</i> L. var. <i>durum</i>).....	06
2. ZONES DE CULTURE, SUPERFICIES ET PRODUCTION DU BLE DUR EN ALGERIE... ..	08
3. LE STRESS THERMIQUE COMME CONTRAINTE DE LA PRODUCTION DU BLE DUR.....	10
3.1 ESQUIVE	10
3.2 TENEUR RELATIVE EN EAU ET LA DEPRESSION DE LA TEMPERATURE.....	12
3.3 LES PROTEINES DU CHOC THERMIQUE ET L'INTEGRITE CELLULAIRE.....	14
3.4 LA FLUORESCENCE CHLOROPHYLLIENNE.....	15
4. DETERMINISME GENETIQUE DES CARACTERES LIES A LA TOLERANCE.....	18
CHAPITRE II. EFFET DU CHOC THERMIQUE SUR L'EXPRESSION DES PROTEINES, LA FLUORESCENCE CHLOROPHYLLIENNE ET L'ACCUMULATION DES METABOLITES CHEZ LES PLANTULES DE BLE DUR (<i>Triticum durum</i> DESF.).....	25
SUMMARY.....	26
RESUME.....	27
INTRODUCTION.....	28
MATERIEL ET METHODES.....	33
1. MATERIEL VEGETAL ET DISPOSITIF EXPERIMENTAL.....	33
1.1 MATERIEL VEGETAL.....	33
1.2 DISPOSITIF EXPERIMENTAL.....	34
1.3 MESURES ET NOTATIONS.....	36
1.3.1 SURFACE DE LA FEUILLE ET LONGUEUR DU COLEOPTILE.....	36
1.3.2 TENEUR RELATIVE EN EAU.....	37
1.3.3 STABILITE DE LA MEMBRANE PLASMIQUE.....	37
1.3.4 CONTENU EN CHLOROPHYLLE.....	38
1.3.5 FLUORESCENCE CHLOROPHYLLIENNE.....	38
1.3.6 PROTEINES DU CHOC THERMIQUE.....	40
1.3.7 ACCUMULATION DE LA PROLINE.....	43
1.3.8 ACCUMULATION DES SUCRES TOTAUX.....	44
1.3.9 INDICES DE TOLERANCE.....	44
2. ANALYSE DES DONNEES.....	45
RESULTATS ET DISCUSSION.....	47

1.LA FLUORESCENCE CHLOROPHYLLIENNE.....	47
1.1 EFFET MOYEN DU CHOC THERMIQUE.....	47
1.2 EFFET MOYEN DU GENOTYPE.....	50
1.3 INTERACTION CHOC THERMIQUE X GENOTYPES.....	51
1.3.1 LA FLUORESCENCE MINIMALE (F_0).....	51
1.3.2 LA FLUORESCENCE MAXIMALE (F_m).....	53
1.3.3 LA FLUORESCENCE VARIABLE (F_v).....	54
1.3.4 LE RENDEMENT QUANTIQUE (F_v/F_m).....	55
2.LES PROTEINES DU CHOC THERMIQUE (HSPs).....	59
3.PROLINE ET SUCRES SOLUBLES.....	69
4. CHLOROPHYLLE, STABILITE MEMBRANAIRE ET TENEUR RELATIVE EN EAU	75
5. COLEOPTILE ET SURFACE DE LA FEUILLE.....	83
6. LIAISONS ENTRE CARACTERES MESURES AU STADE PLANTULE ET LES INDICES DE TOLERANCE DU RENDEMENT GRAINS.....	88

**CHAPITRE III. DETERMINISME GENETIQUE DE LA SURFACE, DES PERTES D'EAU, DE LA
TENEUR RELATIVE EN EAU FOLIAIRES ET DE LA STABILITE DE LA MEMBRANE
PLASMIQUE.....**94

SUMMARY.....	95
RESUME.....	96
INTRODUCTION.....	97
MATERIEL ET METHODES.....	98
1. MATERIEL VEGETAL ET DISPOSITIF EXPERIMENTAL.....	98
1.1 MATERIEL VEGETAL.....	98
1.2 DISPOSITIF EXPERIMENTAL.....	99
2.NOTATIONS.....	99
3. ANALYSE DES DONNEES.....	100
RESULTATS ET DISCUSSION.....	103
1.VARIABILITE PHENOTYPIQUE.....	103
2. CORRELATIONS ENTRE VARIABLES.....	107
3. HERITABILITE ET GAIN GENETIQUE ATTENDU DE LA SELECTION.....	108
CONCLUSION GENERALE.....	112
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	116

Anexe

LISTE DES ABREVIATIONS

AGC	Aptitude Générale à la combinaison
ASC	Aptitude spécifique à la combinaison
Chla	Chlorophylle a
Chlb	Chlorophylle b
CIMMYT	Centre international d'amélioration du maïs et du blé
CME	Carrés moyen des écarts
Col	Coléoptille
Cov	Covariance
Cvp	Coefficient de variation phénotypique
Cvg	Coefficient de variation géotypique
Dom %	Domage Cellulaire
F0	Fluorescence minimale
Fm	Fluorescence maximale
Fv	Fluorescence variable
GG	Gain Génétique
GGM	Gain Génétique moyen
G ² g	Variance géotypique
G ² p	Variance phénotypique
h ² bs	Héritabilité au sens large
HMW	Protéines de haut poids moléculaire
LMW	Protéines de faible poids moléculaire
HS	Heat shock
HSI	Intensité du shock thermique
HSP	Protéines de shock thermique=heat shock proteins
HSSI	Heat shock susceptibility index
ICARDA	International Center for Agricultural Research in Dry Areas

IGC	International grains concil= Conseil international des céréales
ITGC	Institut Technique des Grandes Cultures
KD	Kilo Dalton
RQ	Rendement Quantique
PF	Poids frais
Pi	Indice de supériorité génotypique
Prol	Proline
PS	Poids sec
PT	Poids turgide
PS _{II}	Photosystème II
PS _I	Photosystème I
S	Indice de tolérance
SDS-PAGE	Sodium Dodecyl sulfate électrophorèse sur gel de polyacrylamide
SF	Surface foliaire
STI	Stress tolerance index
Suc	Sucres
TRE	Teneur relative en eau

LISTE DES TABLEAUX

Ordre	Page
Tab.1 Evolution des superficies (ha), production (t) et rendement (t/ha) de blé dur en Algérie au cours de la période 2000/01 à 2011/12	10
Tab.2 Nom et pedigree des géotypes utilisés comme matériel végétal	34
Tab.3 Moyennes des carrés des écarts de l'analyse de la variance des paramètres de la fluorescence chlorophyllienne mesurés sur huit géotypes de blé dur testés pour leur tolérance au choc thermique de trois intensités (HS= 0, 30 et 60 min) à 40°C, au stade plantule.	47
Tab.4 Effet moyen de l'intensité du choc thermique (HSI) des paramètres de la fluorescence chlorophyllienne (moyennes calculées sur les huit géotypes de blé dur testés pour leur tolérance au choc thermique de trois intensités : 0, 30 et 60 min à 40°C, au stade plantule.	48
Tab.5 Effet moyen géotype des paramètres de la fluorescence chlorophyllienne (moyennes calculées sur les trois intensités du choc thermique) mesurés sur blé dur au stade plantule.	50
Tab.6 Valeurs moyennes des paramètres de la fluorescence chlorophyllienne mesurés sur huit géotypes de blé dur soumis au choc thermique à trois intensités à 40°C au stade plantule.	53
Tab.7 Présence /absence des bandes protéiques, selon le poids moléculaire, chez les huit géotypes de blé dur soumis au choc thermique à trois intensités à 40°C au stade plantule (vert=synt/repress, Jaune= témoin).	63
Tab.8 Moyennes des carrés des écarts de l'analyse de la variance du contenu en proline (Pro, µg/ml), du contenu en sucres (Suc, µg/ml), des dommages de la membrane cellulaire (Dom, %), de la teneur relative en eau (TRE, %), de la longueur du coléoptile (Col, cm), du contenu en chlorophylle (Chl, mg/gMF), et de la surface de la feuille (SF, cm ²), des huit géotypes de blé dur testés pour leur tolérance au choc thermique de trois intensités (HS= 0, 30 et 60 min) à 40°C, au stade plantule.	69
Tab.9 Effet moyen de l'intensité du choc thermique (HS) du contenu en proline (Prol, µg/ml), du contenu en sucre (Suc, µg/ml), des dommages de la membrane cellulaire (Dom, %), de la teneur relative en eau foliaire (TRE, %), de la longueur de la coléoptile (Col, cm), du contenu en chlorophylle (Chl, mg/gMF), et de la surface de la feuille (SF, cm ²) des huit géotypes de blé dur testés pour leur tolérance au choc thermique de trois intensités (HS= 0, 30 et 60 min) à 40°C, au stade plantule.	69
Tab.10 Effet moyen géotype du contenu en proline (Prol, µg/ml), du contenu en sucre (Suc, µg/ml), des dommages de la membrane cellulaire (Dom, %), de la teneur relative en eau foliaire (TRE, %), de la longueur du coléoptile (Col, cm), du contenu en chlorophylle (Chl, mg/gMF), et de la surface de la feuille (SF, cm ²) des huit géotypes de blé dur testés pour leur tolérance au choc thermique de trois intensités (HS= 0, 30 et 60 min) à 40°C, au stade plantule.	70
Tab.11 Interaction choc thermique (HS) x géotype du contenu en proline (Prol, µg/ml), du contenu en sucre (Suc, µg/ml), des dommages de la membrane cellulaire (Dom, %), de la teneur relative en eau foliaire (TRE, %), de la longueur du coléoptile (Col, cm), du contenu en chlorophylle (Chl, mg/gMF), et de la surface de la feuille (SF, cm ²) des huit	

génotypes de blé dur testés pour leur tolérance au choc thermique de trois intensités (HS= 0, 30 et 60 min) à 40°C, au stade plantule. 71

Tab.12 Performances de rendement en grains et valeurs des indices de tolérance des stress des génotypes évalués 89

Tab.13 Coefficients de corrélations de rangs entre les valeurs des variables mesurées en absence du choc thermique, au stade plantule et les indices de de tolérance (Au-dessous de la diagonale, coefficients de corrélations, au-dessus probabilités de signification). 89

Tab.14 Coefficients de corrélations de rangs entre les valeurs des variables mesurées sous choc thermique de 30 minutes de durée à 40°C, au stade plantule et les indices de tolérance (Au-dessous de la diagonale,coefficients de corrélations, au-dessus probabilités de signification). 90

Tab.15 Coefficients de corrélations de rangs entre les valeurs des variables mesurées sous choc thermique de 60 minutes de durée à 40°C, au stade plantule et les indices de tolérance (Au-dessous de la diagonale,coefficients de corrélations, au-dessus probabilités de signification). 91

Tab.16 Composantes de la variance 101

Tab.17 Carrées moyens des écarts de l'analyse de la variance des variables mesurées de la population F3. 103

Tab.18 Moyenne, valeur maximale, minimale, variances génotypique, environnementale et phénotypique et coefficient de la variabilité phénotypique et génotypique caractéristiques des variables mesurées de la population F3. 103

Tab.19 Coefficients de corrélations phénotypiques (Sperman's rank correlation) entre les différentes variables mesurées de la population F3 (Au-dessous de la diagonale, coefficient de corrélation, au-dessus probabilité de signification). 107

Tab.20 Héritabilité au sens large, gain génétique attendue en sélection, exprimé en valeur réelle et relativement à la moyenne de la population de base pour les différentes variables mesurées de la population F3. 109

LISTE DES FIGURES

Ordre	Page
Fig.1 Graines de blé dur	6
Fig.2 Phylogénie des espèces de blés	7
Fig.3 Superficies emblavées en blé dur des principaux pays producteurs (moyenne de 2000/2012)	8
Fig.4 Rendement moyen (t/ha) du blé dur des principaux pays producteurs. (moyenne de 2000/2012)	9
Fig.5 Planimètre électronique utilisé pour mesurer la surface foliaire (Area meter AM 300.	36
Fig.6 Fluoromètre Opti-Science 30 utilisé pour la mesure de la fluorescence	39
Fig.7 L'électrophorèse sur gel de polyacrylamide	42
Fig.8 Réduction relative des valeurs des paramètres de la fluorescence chlorophyllienne sous l'effet du choc thermique.	48
Fig.9 Variation relative des valeurs prises par le paramètre F ₀ de la fluorescence chlorophyllienne en fonction des génotypes et du choc thermique.	52
Fig.10 Variation relative des valeurs prises par le paramètre F _m de la fluorescence chlorophyllienne en fonction des génotypes et du choc thermique	54
Fig.11 Variation relative des valeurs prises par le paramètre F _v de la fluorescence chlorophyllienne en fonction des génotypes et du choc thermique	56
Fig.12 Variation relative des valeurs d'efficacité quantique (F _v /F _m) de la fluorescence chlorophyllienne en fonction des génotypes et du choc thermique	57
Fig.13 Variation quantitative du nombre de bandes protéiques observées chez les différents génotypes et traitements de choc thermique (B= Bousselam, G= Gaviota durum, K= Korifla, M= Mrb3, O= Ofanto, T= Tajdid, V= Vitron, W= Waha).	61
Fig.14 Profil électrophorétique des protéines totales des feuilles de Bousselam (puits 3, 4, 5), Gaviota durum (6, 7, 8), Waha (9, 10, 11) et Korifla (12, 13, 14) soumis au choc thermique de 0, 30 et 60 minutes à 40°C, respectivement (1 et 2 marqueurs de poids moléculaires).	62
Fig.15 Profil électrophorétique des protéines totales des feuilles de Mrb3 (puits 3, 4, 5), Ofanto (6, 7, 8), Vitron (9, 10, 11) et Tajdid (12, 13, 14) soumis au choc thermique de 0, 30 et 60 minutes à 40°C, respectivement (1 et 2 marqueurs de poids moléculaires).	64
Fig.16 Groupage des génotypes sur la base du poids moléculaire des protéines synthétisées en absence et sous choc thermique de 30 et 60 minutes à 40°C.	65
Fig.17 Variation de l'indice de sensibilité au choc thermique (HSSI, %) de la proline en fonction des génotypes et de l'intensité du choc thermique	72
Fig.18 Variation de l'indice de sensibilité au choc thermique (HSSI, %) des sucres en fonction des génotypes et de l'intensité du choc thermique.	73
Fig.19 Variation de l'indice de sensibilité au choc thermique (HSSI, %) de la chlorophylle en fonction des génotypes et de l'intensité du choc thermique	77
Fig.20 Variation de l'indice de sensibilité au choc thermique (HSSI, %) de la teneur relative en eau en fonction des génotypes et de l'intensité du choc thermique.	79
Fig.21 Variation de l'indice de sensibilité au choc thermique (HSSI, %) des dommages cellulaires en fonction des génotypes et de l'intensité du choc thermique.	80

- Fig.22** Effet moyen du choc thermique sur la longueur du coléoptile et de la surface de la feuille la plus développée (effet moyen, exprimé en pourcent de la valeur du témoin). **84**
- Fig.23** Variation des valeurs moyennes de la coléoptile et de la surface de la feuille la plus développée en fonction des génotypes (effet moyen génotype, exprimé en pourcent de la valeur minimale, moyenne des traitements du choc thermique). **84**
- Fig.24** Variation de l'indice de sensibilité au choc thermique (HSSI, %) de la longueur du coléoptile en fonction des génotypes et de l'intensité du choc thermique. **86**
- Fig.25** Variation de l'indice de sensibilité au choc thermique (HSSI, %) de la surface foliaire de la feuille la plus développée en fonction des génotypes et de l'intensité du choc thermique. **87**
- Fig.26** Fréquences de distribution des valeurs prises par la teneur relative en eau et la surface foliaire des lignées de la population F3. **105**
- Fig.27** Fréquences de distribution des valeurs prises par les différentes lignées de la population F3 par la perte d'eau foliaire et les dommages cellulaires. **105**

INTRODUCTION GENERALE

L'augmentation de la population mondiale, les changements d'habitudes alimentaires dans les régions à forte croissance économique et la raréfaction des ressources énergétiques fossiles créent de nouvelles tensions sur les marchés agricoles (Wang et Luthe., 2003). Les productions végétales doivent d'ores et déjà répondre à une transformation rapide de la demande, tant sur le plan quantitatif que qualitatif. En même temps, la fertilité des terres cultivées se trouve compromise par une multitude de contraintes environnementales et anthropologiques. En Algérie la production céréalière se caractérise par des fluctuations qui varient en dents de scie d'une année à l'autre (Hakimi., 1993 ; Kadi *et al.*, 2010, Nouar *et al.*, 2012 : Adjabi *et al.*, 2014).

Le blé dur (*Triticum turgidum* L. var. *durum*) occupe une importante place dans les habitudes alimentaires de la population algérienne. La culture de cette espèce est pratiquée sur une large étendue qui va du subhumide à l'aride supérieur. Les emblavements varient selon les campagnes de 0.9 à plus de 1.2 millions d'hectares avec une moyenne d'1 millions d'hectares sur une superficie totale occupée par les céréales de 3.7 millions d'hectares (Benbelkacem., 2013). Plus des deux tiers de ces surfaces sont situés à l'intérieur du pays, sur les hauts plateaux. Les contraintes liées au sol, au climat, aux variétés adoptées et au savoir-faire des agriculteurs limitent les espérances de rendement grain dans cette région. C'est surtout la variabilité climatique qui affecte puissamment la production de blé dur qui varie de 9 à 20 millions de quintaux selon les années (Hannachi., 2013 ; Benbelkacem, 2013). La moyenne des rendements grain qui varie de 7 à 16 q/ha est la plus faible du pourtour méditerranéen (Benbelkacem., 2013).

L'extension des terres arables à des zones peu favorables climatiquement et l'intensification des pratiques agricoles confrontent les cultures à divers stress

abiotiques qui pénalisent les rendements (Wang et al., 2003), selon ces derniers les températures extrêmes, la sécheresse et la salinisation des sols constituent à l'heure actuelle les principaux facteurs de limitation de la productivité végétale. Parmi ces facteurs le stress thermique; est une contrainte majeure limitant les performances de la culture du blé dur. Il est défini comme étant l'élévation de la température au-delà d'un seuil et durant une période de temps assez suffisante pour induire des dommages irréversibles à la croissance et au développement de la plante cultivée. Le stress thermique cause des réductions du poids du grain, du nombre de grains induisant d'importantes pertes de rendement et de la qualité du grain (Hayes *et al.*, 2007).

De nombreuses études ont abordé l'influence de cette contrainte sur la culture des céréales en générale et celle du blé dur en particulier et sur les moyens pour en réduire les effets (Bouzerzour *et al.*, 1994 ; Chennafi *et al.*, 2006 ; Mekhlouf *et al.*, 2006 ; Nouar *et al.*, 2012). L'amélioration du rendement et de la qualité du blé dur passe par la création variétale et l'identification des caractères qui soient liés aux mécanismes d'adaptation aux contraintes environnementales. Le caractère le plus utilisé en sélection est le rendement lui-même, cette sélection directe s'est révélée, le plus souvent inefficace dans l'identification de génotypes adaptés (Adjabi *et al.*, 2014). La sélection faite sur la base des composantes du rendement est encore moins efficace. Et si elle se montre efficace dans l'amélioration du rendement, elle reste inefficace en ce qui concerne la stabilité des performances (Benmahammed *et al.*, 2010a)

Les caractères qui favorisent l'adaptation sont nombreux et variables en fonction des environnements. Pour mieux adapter la plante à la variabilité du milieu de production, la sélection assistée par des approches physiologiques s'impose comme une alternative incontournable (Richards *et al.*, 2002, Pask *et al.*, 2012). La difficulté d'identifier et de caractériser les paramètres de la résistance aux contraintes abiotiques chez les plantes, à travers l'observation d'un caractère

phénotypique complexe et de faible héritabilité, comme le rendement en conditions défavorables, a conduit à s'intéresser à des critères morpho-physiologiques de la résistance à la sécheresse (Benmhammed *et al.*, 2005, Benmahammed *et al.*, 2010b). Des approches analytiques, consistant à isoler et à étudier individuellement un mécanisme de résistance donné, *via* l'observation d'un paramètre particulier (critère de sélection) ont été proposées (Pask *et al.*, 2012).

Plusieurs critères physiologiques et biochimiques ont été ainsi identifiés dans le but de distinguer les variétés sensibles des variétés résistantes au stress : accumulation de proline, induction de protéines spécifiques, résistance stomatique, fluorescence chlorophyllienne et intégrité cellulaire (Cossani et Reynolds, 2012). Ces recherches ont généré une connaissance approfondie des processus physiologiques liés à la réponse de la plante au stress abiotique. L'étude de ces mécanismes, mis en jeu dans le contrôle de la tolérance aux stress chez le blé dur (*Triticum turgidum* L. var. *durum*), ainsi que le déterminisme génétique des caractères liés à la tolérance est très importante pour choisir les parents à croiser et pour la sélection de la descendance. De telles études seraient moins onéreuses si elles sont conduites sur des plantules, pour des raisons de gains de temps et facilité de tri d'un plus grand nombre de plantes.

La présente contribution cible l'évaluation de la réponse des plantules de huit variétés contrastées de blé dur (*Triticum turgidum* L. var. *durum*) au choc thermique et d'analyser le déterminisme des caractères liés à la tolérance du stress, afin de chercher une liaison entre les caractères de la sélection mesurés au stade précoce et la tolérance exprimé au stade tardif sous forme de minimisation de la baisse du rendement. Cet objectif global est subdivisé en deux sous objectif qui sont :

- Etude de la tolérance du blé dur au stress thermique; criblage des plantules sur la base des caractères morpho-physiologiques et la relation entre ces caractères et les indices de tolérance.
- Analyser le déterminisme génétique de quelques caractères discriminants pour la tolérance au stress thermique

CHAPITRE I.

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1. HISTORIQUE DU BLE DUR (*Triticum turgidum* L. var. *durum*)

Le blé dur (Figure 1) appartient à la famille des *Poaceae*, au genre *Triticum*, espèce *Triticum turgidum* L. var. *durum*. Le blé dur (*Triticum turgidum* L. var. *durum*) est une espèce allo tétraploïde ($2n = 4x = 28$) possédant sept paires de chromosomes homéologues associées à deux génomes différents A et B. Le génome A vient du blé sauvage *Triticum urartu* Tum. plus connu sous le nom *einkorn* (*Triticum monococcum*) de constitution génomique diploïde AA. Par contre le génome B vient de l'espèce sauvage, diploïde elle aussi, *Aegilops speltoides* Tausch. (Figure, 2 ; Schuhwerk, *et al.*, 2011).



Figure 1. Graines de blé dur (Hannachi *et al.*, 2013).

Historiquement le blé dur (*Triticum turgidum* L. var. *durum*) a été toujours cultivé dans les régions à climat de type méditerranéen telles que l'Afrique du nord (Maroc, Algérie, Tunisie, Egypte), le sud de l'Europe (Espagne, France, Italie,

Grèce), et le Moyen Orient (Turquie, Syrie, Palestine). Cette espèce réputée tolérante des stress hydrique et thermique, est cultivée en Amérique dans les régions ouest des Dakota et du Montana, aux USA, et dans le Saskatchewan et l'Alberta, au Canada (Hannachi *et al.*, 2013).

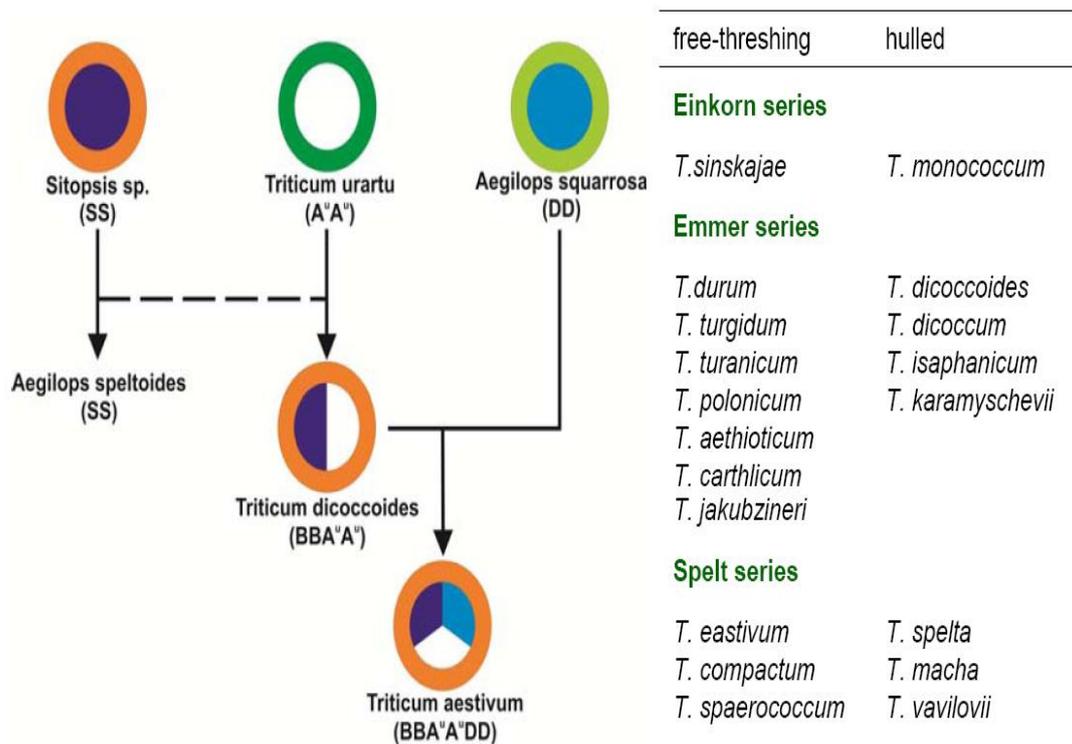


Figure 2. Phylogénie des espèces de blés (Schuhwerk, *et al.*, 2011)

La culture de cette espèce s'est étendue plus au nord en Europe où elle est produite en Russie, au Kazakhstan et en Inde, en Asie. La production mondiale de blé dur avoisine les 36 millions de tonnes, soit près de 5% de la production mondiale totale des blés (IGC., 2012).

L'essentiel de blé dur présent sur le marché mondial à l'exportation vient du Canada, qui est un des plus grands producteurs au monde (IGC, 2012). Les superficies emblavées et les rendements moyens de la période 2000 à 2012, des principaux pays producteurs sont indiqués en figures 3 et 4.

2. ZONES DE CULTURE, SUPERFICIES ET PRODUCTION DU BLE DUR EN ALGERIE

En Algérie, le blé dur est produit dans les trois régions les plus favorables, parmi les cinq zones qui caractérisent le domaine céréalière. Ces régions sont la zone littorale dont la pluviométrie est supérieure à 600 mm, les plaines intérieures, avec une pluviométrie de 450 à 600 mm et les hauts plateaux, avec 350 à 450 mm. Les zones montagneuses plus de 600 mm, et la steppe, avec moins 300 mm. Le blé dur occupe une place privilégiée suite à son utilisation dans l'alimentation quotidienne de la population, sous diverses formes (Mekhlouf *et al.*, 2006 ; Nouar *et al.*, 2010).

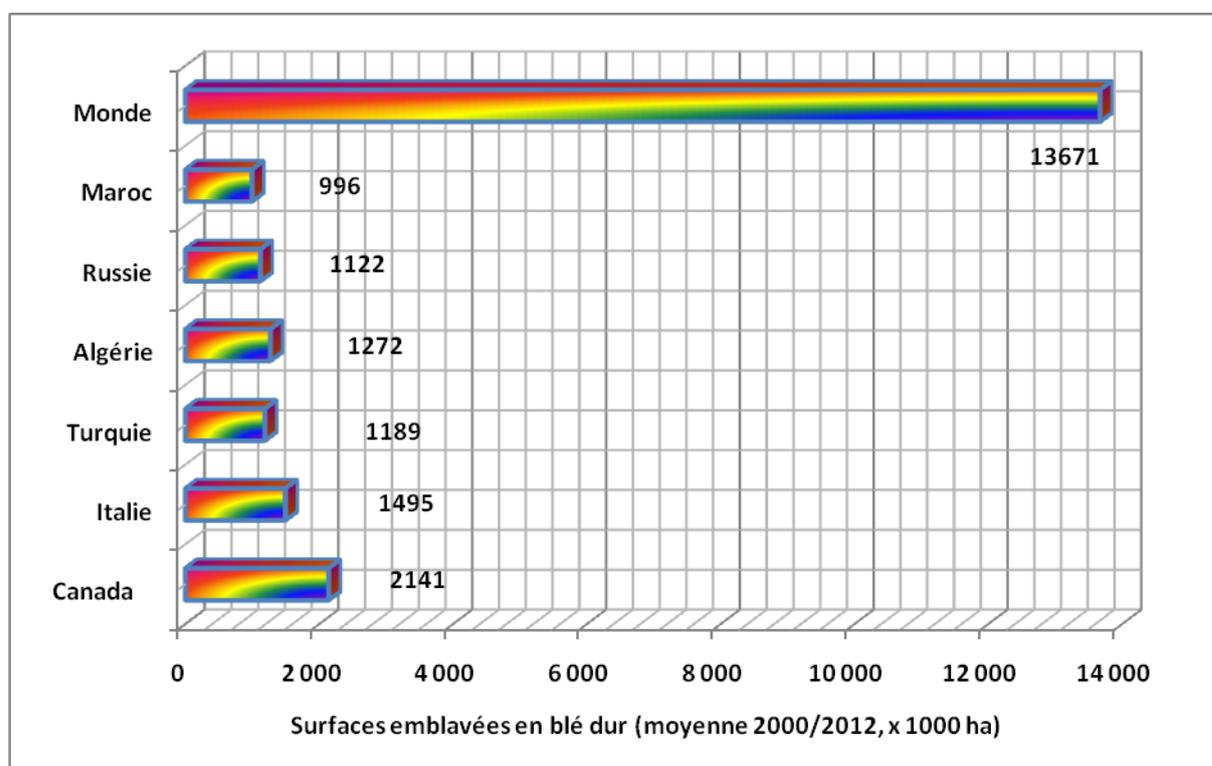


Figure 3. Superficies emblavées en blé dur des principaux pays producteurs (moyenne de 2000/2012, Faostat., 2013).

L'aire de sa culture s'étend du littoral à la limite inférieure des hauts plateaux, ou il est conduit sous conditions pluviales subissant les effets des contraintes climatiques dont le déficit hydrique et les températures élevées de fin de cycle (Mekhlouf *et al.*, 2006 ; Nouar *et al.*, 2010). Les risques liés aux

changements climatiques et la globalisation de l'économie mondiale rendent le besoin de construire une sécurité alimentaire nationale fondée sur l'augmentation continue de la production agricole locale plus que nécessaire.

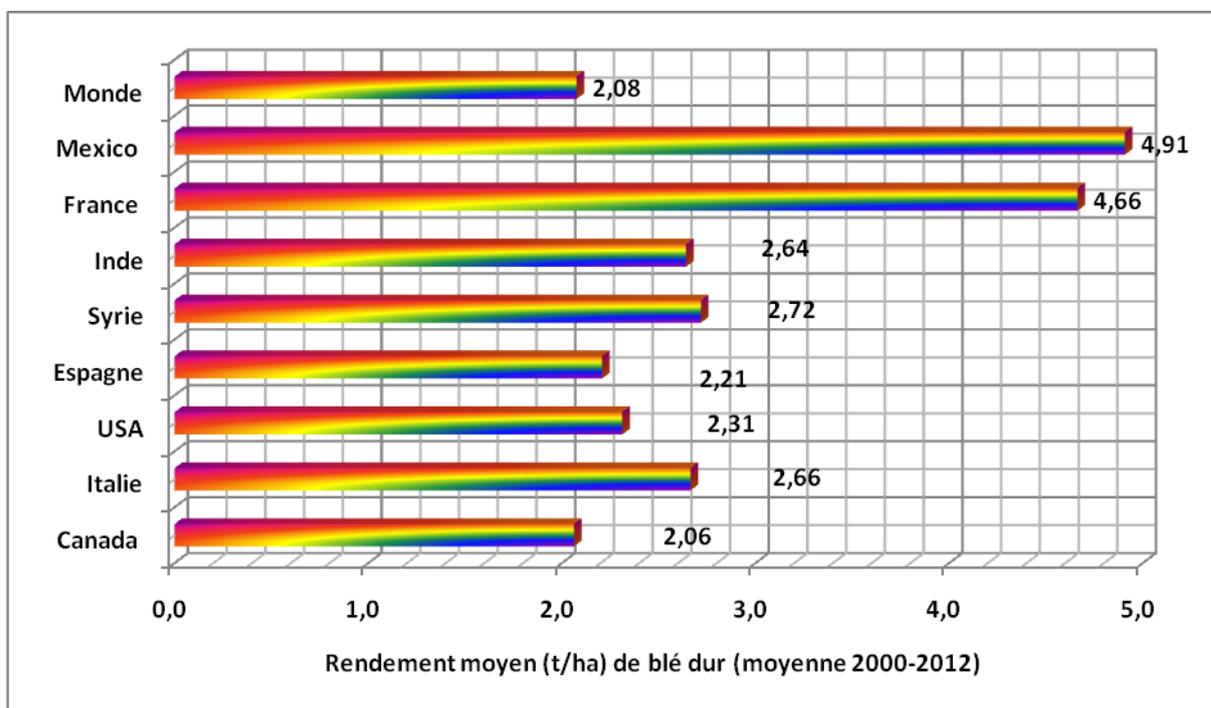


Figure 4. Rendement moyen (t/ha) du blé dur des principaux pays producteurs. (moyenne de 2000/2012, Faostat, 2013).

Examinées sur une période de douze campagnes agricoles, les superficies, productions et rendement de blé dur, indiquées au tableau 1 (Benbelkacem, 2013). Bien que la sole, emblavée en blé dur, soit relativement importante, au regard des superficies réservées à la céréaliculture, les rendements restent faibles, variant entre 0.70 et 1.58 t/ha (Tableau 1).

La production nationale ne représente à peine que 35% des besoins du pays, le reste est couvert par des importations, à partir de l'Europe, des Etats Unis, du Canada et de l'Argentine qui sont les principaux fournisseurs de l'Algérie. La moyenne de la production toute céréale confondue est de 3.2 millions de tonnes, avec un minima de 1.7 millions de tonnes et un maxima de 5.3 millions de tonnes.

Le blé dur est semé sur 1.2 millions d'hectares, et sa production représente 45% de la production totale des céréales alors que la production de L'orge représente plus de 28 % suivé par 24% pour le blé tendre (Benbelkacem., 2013)

Tableau 1. Evolution des superficies (ha) récoltés, production (t) et rendement (t/ha) de blé dur en Algérie au cours de la période 2000/01 à 2011/12 (Benbelkacem., 2013).

Campagnes	Superficies (ha)	Production (t)	Rendement (t/ha)
2000/2001	1112180	1238860	1.11
2001/2002	1350740	950967	0.70
2002/2003	1321580	1802393	1.36
2003/2004	1372495	2001700	1.46
2004/2005	1042894	1568709	1.50
2005/2006	1162880	1772800	1.52
2006/2007	1187620	1528998	1.29
2007/2008	726105	935000	1.29
2008/2009	1262842	2001037	1.58
2009/2010	1181774	1808973	1.53
2010/2011	1230414	1927474	1.57
2011/2012	1205576	1832475	1.52

3. LE STRESS THERMIQUE COMME CONTRAINTE DE LA PRODUCTION DU BLE DUR

3.1. *ESQUIVE*

La situation géographique du pays au sud de la Méditerranée, impose des régimes pluviométrique et thermique des plus irréguliers. De plus les terres portant l'essentiel des superficies céréalières sont situées à l'intérieur du pays, dont le climat est de type méditerranéen continental, très contrasté. Cette situation limite dès le départ, et dans la plus part des cas, les espérances de production (Bouzerzour *et al.*, 2002).

La région des hauts plateaux est connue comme étant une région à fortes contraintes climatiques, particulièrement pour la culture des céréales. Sous ces conditions agro-climatiques, le matériel végétal subit tout au long de son cycle de

nombreuses périodes de stress qui affectent le potentiel de production (Mekhlouf *et al.*, 2006 ; Chennafi *et al.*, 2006 ; Benmahammed *et al.*, 2010a, Adjabi *et al.*, 2014).

L'amélioration génétique du blé dur des zones sèches reste, de ce fait, basée sur la recherche d'une meilleure tolérance aux stress abiotiques, pour adapter la plante à la variabilité du milieu de production (Nouar *et al.*, 2012 ; Adjabi *et al.*, 2014).

Les hautes températures affectent la performance et la stabilité des rendements des céréales dans le bassin méditerranéen. L'adaptation à la contrainte thermique est la capacité de la culture à produire un rendement satisfaisant sous contrainte dont la durée et l'intensité sont fluctuantes.

Certes l'esquive, induite par la précocité à l'épiaison, permet aux génotypes précoces d'échapper au stress en accomplissant leur cycle de développement en dehors des périodes de forte contrainte thermique. La stratégie de l'esquive ne semble pas suffisante, en elle-même, sous les conditions de production du blé dur sur les hautes plaines orientales (Benmahammed *et al.*, 2010 ; Nouar *et al.*, 2010 ; Nouar *et al.*, 2012). L'adjonction d'autres caractères à des fonds génétiques, qui arborent cette caractéristique, semble plus que nécessaire pour améliorer la résilience des plantes vis-à-vis des stress abiotiques en général.

Pris séparément, plusieurs caractéristiques, inductibles ou constitutives, ont été étudiées et sont rapportées dans la littérature, comme intervenant dans le mécanisme de la tolérance au stress abiotique (Porter *et al.*, 1995 ; Fischer *et al.*, 1998 ; Reynolds *et al.*, 1998 ; Fokar *et al.*, 1998 ; Balota *et al.*, 2007 ; Lopes et Reynolds, 2010 ; Mohammadi *et al.*, 2009 ; Richards *et al.*, 2002 ; Singh *et al.*, 2006 ; Tyagi *et al.*, 2003 ; Yang *et al.*, 2002 ; Wardlaw *et al.*, 2002 ; Ristic *et al.*,

2007 ; Ehdaie *et al.*, 2006 ; Rekika *et al.*, 2000 ; Ibrahim et Quick, 2001 ; Asseng *et al.*, 2011 ; Lobell *et al.*, 2012).

3.2. *TENEUR RELATIVE EN EAU ET LA DEPRESSION DE LA TEMPERATURE*

La capacité de rétention de l'eau par le feuillage est préconisée et utilisée pour évaluer la résistance des plantes vis-à-vis des stress thermique et hydrique (Yang *et al.*, 2001). Clarke et Mc Craig (1982) rapportent que la mesure du contenu relatif en eau du feuillage est un bon indicateur de la résistance génotypique aux stress abiotiques. Ces auteurs recommandent cette technique pour cribler tout germoplasme destiné aux zones sèches.

Le stress thermique active le développement au détriment de la croissance, induisant une réduction de la hauteur du chaume, de la surface foliaire, de la biomasse aérienne et du rendement grain et accélèrent l'achèvement du cycle de vie de la plante. La résistance au stress thermique est étroitement liée à l'alimentation de la plante en eau. Elle dépend également d'autres caractères morphologiques tels que la structure de la feuille et le nombre et dimension des stomates (Al Khatib et Paulsen, 1984 ; Balota *et al.*, 2007).

L'activité physiologique du blé est maximale à 25°C, des températures de 28 à 32°C sont considérées comme stressantes. Les hautes températures au-dessus de 30°C affectent le poids finale du grain en réduisant la durée de remplissage du grain (Al Khatib et Paulsen., 1984 ; Balota *et al.*, 2007).

La dépression de la température du couvert végétal ou de la feuille étandard apparait comme un outil utile capable de discriminer entre les génotypes tolérants et ceux qui sont sensibles à la contrainte hydrique et thermique (Balota *et al.*, 2007). La dépression de la température, mesurée avec un thermomètre à infrarouge, est obtenue en déduisant la température du végétal de celle de l'air ambiant. Elle est utilisée pour cribler des centaines de lignées, en une courte

période de temps (Ayeneh *et al.*, 2002; Balota *et al.*, 2007; Bilge *et al.*, 2008 ; Pask *et al.*, 2012).

Ce paramètre montre une association étroite avec le rendement grain sous conditions naturelles de climat chaud, comme au Soudan et au Mexique (Reynolds *et al.*, 1994; Fischer *et al.*, 1998). Ayeneh *et al.*, (2002) trouvent une association positive entre la dépression de la température du couvert végétal et la dépression de la température des organes végétatifs tels que la feuille étendard et l'épi, sous conditions de stress thermique. Ces résultats suggèrent que les barbes jouent un rôle dans la tolérance aux stress hydrique et thermique de fin de cycle de la culture.

Le stress thermique durant la période pré-anthèse modifie non seulement le poids final du grain, mais aussi le nombre de grains. Au-delà de 32°C, on peut observer des dommages irréversibles pouvant aller jusqu'à la destruction de l'organe ou de la plante (Wardlaw *et al.*, 1998). Selon Hays *et al.*, (2007), sous les conditions du sud des plaines intérieures américaines, le rendement est couramment réduit par l'action des hautes températures au cours de la période de remplissage.

L'effet se manifeste sous forme de réduction du nombre de grains produit par unité de surface emblavée, du poids individuel du grain et de la durée de la phase de remplissage. La réduction du nombre de grains produit par m² est attribuée à la sensibilité du développement du grain pollen sous conditions de températures élevées (Dorion *et al.*, 1996 ; Abbassenne *et al.*, 1998).

Sous conditions normales, le grain de pollen stocke de l'amidon et des protéines qui sont utilisées comme source d'énergie pour la croissance du tube pollinique. De ce fait l'élévation de la température inhibe l'accumulation de l'amidon et des protéines dans le grain de pollen, le rendant incapable de fertiliser

(Dorion *et al.*, 1996). Saini *et al.*, (1983) mentionnent, que sous stress thermique, le tube pollinique est très court et faiblement développé.

3.3. LES PROTEINES DU CHOC THERMIQUE ET L'INTEGRITE CELLULAIRE

Wahid *et al.*, (2007) mentionnent que la synthèse et l'accumulation des protéines de choc thermique, sous conditions de températures élevées empêchent la dénaturation des protéines. Iba (2002) suggère l'hypothèse que certains membres de la famille des protéines de choc thermique, tel que l'enzyme HSP₇₀, participent aux réactions d'assemblage et désassemblage de l'ATP- protéine dépendante et de ce fait évitent la dénaturation des protéines sous stress thermique. Wang et Luthe (2003) notent que la sensibilité au stress thermique chez l'agrostis (*bent-grass*) est liée à moins d'accumulation des HSP chloroplastiques. Sharkey (2005) suggèrent que les HSP chloroplastiques protègent le PS_{II} de l'effet pénalisant des hautes températures.

L'intégrité cellulaire est recommandée comme une technique qui promet en matière de sélection vis-à-vis du stress thermique. Ce test donne une mesure de la quantité d'électrolytes qui s'échappent passivement de la cellule endommagée par le stress thermique. Les résultats de ce test sont corrélés avec la productivité sous stress thermique (Fokar *et al.*, 1998).

Reynolds *et al.*, (1994) trouvent une corrélation significative entre le pourcentage de dégâts cellulaires causés par le choc thermique et la réduction de la productivité des génotypes testés. Bouzerzour *et al.*, (1998) notent que les valeurs des dommages cellulaires sont négativement corrélées au poids des épis mesuré au stade maturité, au rendement grain et à l'indice de récolte.

Ces résultats suggèrent que la tolérance au stress thermique est positivement corrélée à la productivité, du moins, dans l'échantillon de génotypes évalués. Ces résultats rejoignent ceux rapportés par Fokar *et al.*, (1998) qui trouvent une

corrélation négative entre le rendement grain et les valeurs du test de l'intégrité cellulaire (% dommage cellulaire). Saadalla *et al.*, (1990), par contre, ne trouvent pas de relations entre les valeurs du test de l'intégrité cellulaire et la productivité chez le blé tendre. Il en est de même chez le sorgho d'après les résultats de Sullivan et Ros (1979). Ceci suggère que la tolérance n'est pas toujours liée aux performances de rendement.

3.4. LA FLUORESCENCE CHLOROPHYLLIENNE

L'activité photosynthétique est un processus complexe, impliquant de nombreuses étapes photochimiques et biochimiques, au cours desquelles l'énergie lumineuse absorbée par les pigments chlorophylliens, regroupés au sein de photosystèmes, est transformée en énergie chimique utilisable par la plante (Lawlor., 1987). Une partie de l'énergie captée par les chlorophylles est dissipée sous forme de chaleur et de fluorescence.

La cinétique de la fluorescence est utilisée pour étudier les effets des stress abiotiques sur le rendement de la photosynthèse et principalement l'activité du photosystème PS_{II} (Krause et Wers, 1984). La mesure de la fluorescence est basée sur le principe qu'à l'obscurité, tous les centres PS_{II} de la feuille sont ouverts. Ils sont donc aptes à recevoir les électrons de l'énergie lumineuse captée par les antennes réceptrices des chlorophylles. Comme à l'obscurité la photosynthèse est nulle, ces centres sont donc inactifs et de ce fait la fluorescence est à son niveau minimal noté F₀.

La saturation de la feuille par une lumière de forte intensité, inonde les centres PS_{II} d'électrons, ces derniers sont dits alors réduits ou fermés. Cette lumière active les centres PS_{II} qui sont excités. L'excitation est à son maximum suite à l'intensité de la lumière utilisée. La fluorescence atteint dans ce cas, son niveau le plus élevé, il est noté F_m (Havaux *et al.*, 1991). Pour une feuille

accoutumée à la lumière ambiante, la fluorescence a une valeur relative située entre F_0 et F_m .

Selon Havaux *et al.*, (1991), le rendement quantique ou énergétique de la photosynthèse de la photochimie des PSII (OP max) à saturation lumineuse maximale, est $OP\ max = (F_m - F_0) / F_0$. La fluorescence variable (V) donne une mesure des sites PSII qui sont actifs, donc fermés, V est mesuré par : $V = (F - F_0) / (F_m - F_0)$. Comme les stress abiotiques affectent la photosynthèse. Ils affectent donc entre autre, les centres PSII. V et OP max, sont utilisés, selon Havaux *et al.*, (1991), pour cribler les géotypes pour la tolérance vis-à-vis du stress thermique.

La fluorescence chlorophyllienne est une méthode rapide et non destructive qui permet d'avoir une idée du statut énergétique lié à la photosynthèse (P_n) de la plante sous stress (Havaux *et al.*, 1988, ; Abdallah, 2007). Le PSII est très sensible à la photo inhibition. Le rapport de la fluorescence variable (F_v) à la fluorescence maximale (F_m) obtenu à partir de la courbe de kautsky, donne une mesure du rendement quantique potentiel du PSII.

Le rapport F_v / F_m prend en général des valeurs variant de 0.75 à 0.85 pour les plantes non stressés. Il est positivement lié au rendement quantique de la photosynthèse nette des feuilles non photo inhibées (Shreiber et Bilger, 1993). La photo inhibition, causée par un excès de flux de photons, est la cause principale du rapport F_v / F_m sous conditions naturelles (Long *et al.*, 1994). La réduction du rapport F_v / F_m est indicatrice de la photoinhibition chez les plantes stressés. Cette réduction peut être réversible (photoprotection) ou irréversible (Araus et Logan, 1994).

La réduction de F_v / F_m peut être due à une augmentation du F_0 , indiquant l'ouverture de tous les accepteurs d'électrons et à un quenching photochimique minimal qui est une caractéristique de la réduction partielle ou totale des centres

de réactions du PS_{II} ou du non transfert de l'énergie d'excitations des antennes vers les centres de réactions. Comme celle peut avoir origine un abaissement de la valeur de F_m, indicatrice de l'augmentation du quenching non photochimique. La photo inhibition conduit à ces deux états, mais la seconde situation est dite photoprotection parce qu'elle fournit à la plante un moyen moins pénalisant d'utiliser l'excès d'énergie d'excitation captée par les antennes (Osmond *et al.*, 1987).

Selon Araus *et al.*, (1981), la surface sous la courbe F_o et F_m est proportionnellement à la dimension, du pool d'accepteurs d'électrons réduit du PS_{II}. Un simple indicateur de ce pool est la moitié du temps ($\frac{1}{2}t$) mis par la fluorescence pour faire le parcours entre F_o et F_m. Les rapports entre différents paramètres de la fluorescence chlorophyllienne et le rendement de 144 génotypes de blé dur ont été étudiés sous trois régimes différents de l'eau (Araus *et al.*, 1998). Le paramètre qui a montré une meilleure corrélation génétique avec le rendement grain est : $\frac{1}{2}t$ (r = -0.92), suivi de F_o (r = 0.88), F_M (r = 0.74) et F_V (r = 0.71), tandis que F_V/F_M (r = 0.34) était le paramètre le moins corrélé.

La durée de vie de la surface verte ou la stabilité de la chlorophylle est une caractéristique qui est utilisée en sélection pour la tolérance et l'adaptation au stress thermique (Acevedo, 1991). La concentration en chlorophylle de la feuille étendard, mesuré deux semaines après l'anthèse montre une corrélation significative avec le rendement grain sous stress thermique (Reynolds *et al.*, 1994). La facilité de mesure de cette caractéristique avec le chlorophylle mètre permet le criblage pour la tolérance au stress thermique d'un grand nombre de lignées sous sélection, en un temps relativement court (Ristic *et al.*, 2007).

Al-Khatib et Paulsen (1984) mentionnent que le contenu en chlorophylle de la feuille étendard peut être utilisé pour mesurer la vitesse de sénescence sous stress thermique. Selon Fokar *et al.*, (1998), le contenu en chlorophylle baisse

après l'anthèse quelques soit le traitement ou le génotype mais cette baisse est plus importante chez les génotypes sensibles au stress thermique. Camejo *et al.*, (2005) ainsi que Wahid et Ghazanfar (2006) rapportent une augmentation du ratio Chla/Chlb et la diminution du ratio Chl/caroténoïde chez les génotypes tolérants évalués sous stress thermique.

4. DETERMINISME GENETIQUE DES CARACTERES LIES A LA TOLERANCE

Les caractères d'adaptation ont été largement étudiés (Turner, 1997). Cependant, leur déterminisme génétique est souvent peu connu. Pour mieux comprendre les composantes génétiques de la tolérance, l'étude génétique est néanmoins nécessaire. Les progrès réalisés dans le domaine de la tolérance des stress sont maigres suite aux difficultés et à la complexité de la nature des mécanismes qui semblent conditionnés la tolérance et à la diversité des caractères qui lui sont liés (Reynolds *et al.*, 2005).

Fischer et Maurer, (1978) utilisent le rapport des rendements grains en présence et en absence du stress comme indicateur de la tolérance au stress. Cet indice dénoté S mesure et le potentiel de rendement et la résilience vis-à-vis du stress (Clarke *et al.*, 1992, Benmahammed *et al.*, 2010). Ces derniers mentionnent que cet indice mesure la tolérance à la contrainte et il est négativement lié à la performance de rendement.

Kadi (2010) rapporte des valeurs de l'indice S de 0.73 à 1.35 pour l'orge et pour le blé dur, Benmahammed *et al.*, (2010) rapportent des valeurs de 0.48 à 1.37. Selon ces derniers les valeurs élevées de l'indice S sont indicatrices de performance, alors que les faibles valeurs sont indicatrices de tolérance des stress.

Lin et Binns (1988) utilisent l'indice de supériorité génotypique, dénoté Pi, pour comparer la variation des rendements des génotypes conduits sur plusieurs environnements relativement au rendement du meilleur génotype par

environnement. Benmahammed *et al.*, (2010) ainsi que Clarke *et al.*, (1992) indiquent que les valeurs de l'indice P sont corrélées aux performances de rendement et à la stabilité. Kadi (2010) rapporte des valeurs de l'indice P, variant entre 0.04 et 8.44 pour 12 variétés d'orge et des valeurs de l'indice STI variant de 0.43 à 0.47. Les géotypes, les plus performants, sont ceux qui associent à une faible valeur de l'indice Pi à une valeur élevée de l'indice STI, selon Kadi (2010). Kadi (2010) rapporte que les indices STI de Fernandez (1993) et P de Lin et Binns (1988) associent performance de rendement et stabilité des performances sur l'ensemble des environnements testés.

Avant d'utiliser les caractères impliqués dans la tolérance du stress en sélection pour cribler le matériel en ségrégation, il est important de connaître ceux qui sont associés à la tolérance, si l'on veut faire un progrès significatif. Ces caractères doivent répondre à certaines conditions dont entre autre, la présence de la variabilité génétique, une corrélation significative avec le rendement en présence de la contrainte hydrique, une héritabilité élevée, la facilité et la rapidité de mesure, la fiabilité assurant la précision, et la reproductibilité des mesures.

Les caractères, qui sont rapportés dans la littérature, comme étant plus ou moins liés à la tolérance de la contrainte hydrique, sont nombreux (Reynolds *et al.*, 2005). Ludlow et Muchow (1990) font remarquer que tous ces caractères n'ont pas été évalués de manière critique pour valider leur utilisation comme critères, simple ou associés, de sélection de la tolérance à la contrainte hydrique.

Parmi les caractères conditionnant la tolérance du stress figure la teneur relative en eau qui est un indice reproductible et fiable de l'état hydrique de la plante selon plusieurs auteurs dont Clarke *et al.*, (1992), Fella *et al.*, (2002) et Sanchez-Rodriguez *et al.*, (2010). Clarke *et al.*, (1991) suggèrent cette caractéristique pour cribler des lignées tolérantes à la contrainte hydrique.

Sanchez-Rodriguez *et al.*, (2010) notent que la teneur relative en eau est un des meilleurs indicateurs pour discriminer entre les cultivars tolérants et sensibles chez la tomate. Dedio (1975) rapporte que la teneur relative en eau est sous contrôle génétique simple. Ce caractère est transmissible entièrement à la descendance, et il est positivement lié au rendement grain en présence de la contrainte hydrique. Fellah *et al.*, (2002) observent des différences génotypiques dans le temps mis par les stomates pour fermer sous stress. Ils notent aussi des différences assez conséquentes dans la teneur relative à laquelle les stomates se ferment.

Zhang *et al.*, (1993) mentionnent que le stress peut causer des blessures fonctionnelles à la membrane plasmique, conduisant à la fuite des électrolytes vers l'espace extracellulaire, et à la désintégration de la membrane. Le maintien de l'intégrité de la membrane plasmique, sous stress, est une caractéristique qui est rapportée comme étant liée à la tolérance des plantes aux stress.

Morgan (1984) mentionne que l'accumulation des solutés chez le blé est une stratégie d'adaptation à la contrainte hydrique. Ce phénomène est également noté chez l'orge et chez le sorgho (Santamaria *et al.*, 1990). Les substances accumulées à cette fin sont des acides aminés, des acides organiques, des ions inorganiques comme les ions Na⁺, K⁺ et Cl⁻ et des sucres solubles (Morgan, 1984).

Morgan (1984) a sélectionné des lignées de blé ayant une capacité d'ajustement osmotique élevée à l'intérieure des populations en ségrégation sous serre. Les lignées ainsi sélectionnées présentent une plus grande performance de rendement grain en conditions de stress de plein champ.

Morgan (1991) rapporte que chez le blé l'ajustement osmotique est sous contrôle mono génique. L'ajustement osmotique est de ce fait suggérée comme critère pour cribler les populations en ségrégation pour la tolérance à la contrainte

hydrique (Morgan, 1984; Moinuddin *et al.*, 2005). Cette caractéristique est génétiquement transmissible et de manière simple, ce qui permet de discriminer entre les génotypes à faible et à capacité élevée d'ajustement osmotique (Morgan, 1991).

L'accumulation de la proline contribue au processus d'ajustement osmotique (Morgan, 1984). Elle sert comme une réserve non-toxique d'azote et d'énergie (Joyce *et al.*, 1992). Cette accumulation, chez le blé, a été associée à l'adaptation à des conditions de stress sévères (Stewart et Bogges, 1978). Hanson *et al.*, (1979) mentionnent qu'il est possible de sélectionner pour l'accumulation de proline en F2 et F3 issues d'un croisement entre des génotypes d'orge caractérisés par de forte et faible capacités d'accumulation de la proline.

La teneur en proline présente une hérédité simple (Kueh *et al.*, 1984). Zhang *et al.*, (1999) rapportent la présence d'une variabilité génétique appréciable de l'accumulation de la proline, ce qui suggère la possibilité de sélectionner, sur la base de la proline des lignées tolérantes.

La durée de la surface verte ou la stabilité de la chlorophylle est une autre caractéristique qui est utilisée en sélection pour la tolérance et l'adaptation au stress thermique (Acevedo 1999; Bahlouli *et al.*, 2005). La concentration en chlorophylle de la feuille étendard, mesurée deux semaines après l'anthèse montre une corrélation significative avec le rendement en grains sous stress thermique (Blum, 1988; Araus *et al.*, 2002; Reynolds *et al.*, 2007). Dans de tels environnements, la réduction de l'activité photosynthétique des génotypes peu productifs est corrélée à la réduction de la concentration chlorophyllienne de la dernière feuille.

La sélection sur la base du rendement grain ou directe n'est efficace que si les conditions de milieu qui ont permis la réalisation d'un rendement grain donné, se

répètent de façon régulière. En milieux relativement plus stables, les progrès de la sélection directe sont, donc plus évidents, qu'ils ne le sont en milieux variables où les interactions génotype x environnements amenuisent le gain génétique réalisé (Bouzerzour et Djekoun., 1996; Catteveli *et al.*, 2002). L'inefficacité de la sélection directe est expliquée par des interactions génotypes x lieux qui réduisent la variance génotypique et le coefficient de l'héritabilité du rendement (Annichiarico *et al.*, 2006; Kamoshita *et al.*, 2008).

L'étude de l'action des gènes fournit des informations sur la nature de la variance génétique des populations en ségrégations (Hallauer et Miranda., 1988). Elle suggère le choix de la méthode de sélection à employer pour développer de nouvelles variétés. Ainsi des effets significatifs de l'aptitude générale à la combinaison sont rapportés par Ullah (2004) pour la surface de la feuille.

Ceci suggère la prédominance d'effets génétiques additifs et d'une héritabilité élevée. Une surface de la feuille étandard élevée est désirable parce qu'elle est liée au rendement grain (Rahim *et al.*, 2006). Des effets géniques non-additifs sont également rapportés (Malik *et al.*, 2005). Ceci indique que parfois des effets géniques additifs et non-additifs sont impliqués dans le contrôle de ce caractère.

Fellahi (2013) rapporte des liaisons significatives entre les performances parentales et les aptitudes générales à la combinaison (AGC) pour le contenu en chlorophylle et des liaisons non significatives pour le rendement grain, la surface foliaire, la teneur relative en eau et la proline dans un croisement lignées x testeurs de blé tendre. Des liaisons significatives suggèrent que les valeurs des hybrides sont prévisibles sur la base des AGC des parents qui elles-mêmes sont liées aux performances parentales.

L'amélioration du contenu en chlorophylle peut se faire sur la base des AGC qui sont prédites par les valeurs parentales, alors que l'amélioration de la teneur relative en eau et de la proline est dépendante du type de croisement et l'ASC extériorisée (Fellahi, 2013). L'hérédité de la chlorophylle est simple alors que celle de la teneur relative en eau et de la proline est plus complexe.

Théoriquement, lorsque l'aptitude générale à la combinaison est plus importante que l'ASC, il est possible de prédire la performance des hybrides à partir de la performance des parents et de leur AGC. On est en présence, dans ce cas, d'actions géniques essentiellement de type additives, donc rapidement fixables, avec peu de dominance. En effet, la performance de l'hybride peut être prédite sur la base des valeurs observées des parents croisés : $[(P_i + P_j)/2]$ ou sur la base de la grande moyenne plus les effets d'AGC des parents croisés : $\mu + AGC_i + AGC_j$ (Panter et Allen, 1995 ; Brandle et McVetty, 1989). Dhanda et Sethi (1998) mentionnent que la teneur relative en eau est déterminée par des effets géniques additifs, alors que Farshadfar *et al.*, (2012) rapportent que ce caractère est sous l'action génique de type non additive.

L'efficacité de sélection pour un caractère particulier dans une population dépend en grande partie des facteurs génétiques et non-génétiques affectant l'expression phénotypique. La sélection mono caractère au cours des générations précoces est plus efficace pour les caractères à héritabilité élevée. Le coefficient de la variation phénotypique indique l'importance de la variabilité intra population pour un caractère donné.

Fellahi (2013) rapporte un coefficient de variation de 28.5%, pour le rendement grain, 23.3% pour le contenu en chlorophylle, de 35.3% pour la proline, de 18.0% pour la surface de la feuille étendard et de 2.8% pour la teneur relative en eau. Le rendement grain, la surface de la feuille étendard, la teneur relative en eau,

la chlorophylle et la proline présentent une faible héritabilité (< 30%) suggérant un effet milieu très important qui masque l'effet génétique (Fellahi., 2013).

Chapitre II

Effet du choc thermique sur l'expression des protéines, la fluorescence chlorophyllienne et l'accumulation des métabolites chez les plantules de blé dur (*Triticum durum* Desf.)

Summary

Physiological as well as biochemical traits are receiving increasing attention as screening tools for stress resistance to enhance both yield potential and yield stability under stressful conditions. This study was undertaken to investigate the discriminating ability of physiological screening tests applied to durum wheat lines (*Triticum durum* Desf.) subjected to heat shock at the seedling growth stage and to study their relationships with grain yield stress tolerance indices (P, S and STI). Sufficient amount of variability was observed in the responses of the eight durum wheat genotypes evaluated. Heat shock increased the expression of new heat shock proteins and repressed others. Proline, soluble sugars and damage to cell membrane were increased too and Fv/Fm ratio, relative water content, coleoptile length, chlorophyll content, and leaf area were decreased. Genotype responses varied according to stress intensity. Different genotypes were classified as tolerant to stress based on different parameters. Base on proline, soluble sugars and leaf regrowth results, Korifla was identified as stress tolerant. Bousselam was declared stress tolerant based on relative water content, membrane stability, chlorophyll content results. Waha was tolerant based on Fv/Fm ratio. P index elected three varieties as stable and high yielding. Correlations study indicated that the relationships between physiological parameters and with tolerance indices varied according to stress levels. However Fv/Fm ratio was consistently correlated with P index suggesting that this physiological trait could be recommended for early screening of genotypes tolerant to heat stress.

Key words: *Triticum durum*, relative water content, coleoptile, fluorescence, P index, heat shock proteins, seedling.

Résumé

Les caractères physiologiques et biochimiques sont perçus comme d'intéressants outils de criblage pour la tolérance pour améliorer simultanément le potentiel et la stabilité des performances sous stress. Cette étude a été conduite pour analyser la capacité de discrimination des tests physiologiques appliqués aux génotypes de blé dur (*Triticum durum* Desf.) soumis au choc thermique au stade plantule et d'étudier les liaisons avec les indices de tolérance des stress (P, S et STI) du rendement grain. Une variabilité appréciable de réponses a été observée chez les huit variétés évaluées. Le choc thermique induit l'expression de nouvelles protéines de choc thermique et réprime celles exprimées en absence de stress. Le stress induit l'augmentation de la proline, des sucres solubles ainsi que le % de dommages à la membrane plasmique, par contre le ratio Fv/Fm, la teneur relative en eau, la longueur du coléoptile, le contenu en chlorophylle, et la surface foliaire diminuent. Les réponses des génotypes varient selon l'intensité du stress. Différents génotypes ont été classés comme tolérants sur la base de ces paramètres. Sur la base des valeurs de la proline, des sucres solubles, et de la reprise de l'élongation foliaire, Korifla est classé comme tolérant. Bousselam est classé comme tolérant sur la base de la teneur relative en eau, la stabilité membranaire et le contenu en chlorophylle. Waha est classé comme tolérant sur la base du ratio Fv/Fm. L'indice P identifie trois génotypes comme étant stables et performants. L'analyse des corrélations indique que les liaisons entre les paramètres physiologiques et avec les indices de tolérance varient en fonction de l'intensité du stress. Cependant le ratio Fv/Fm présente des liaisons stables avec l'indice P, ce qui suggère que ce paramètre physiologique peut être recommandé pour le criblage précoce des génotypes tolérants au stress thermique.

Mots clés : *Triticum durum*, teneur relative en eau, coléoptile, fluorescence, indice P, protéines de choc thermique, plantules.

INTRODUCTION

L'étendue des températures assurant le fonctionnement optimale des enzymes du blé dur est située entre 17.5 et 23°C, quoique des températures de l'ordre 25°C sont optimales pour l'activité photosynthétique (Burke *et al.*, 1988; Porter et Gawith., 1999). Asseng *et al.*, (2010) rapportent que pour chaque jour dont la température maximale est de 34°C ou plus, le rendement du blé est réduit de 0.2t/ha, suite à la senescence rapide du feuillage sous ces conditions stressantes. De ce fait, un grand intérêt est porté à la recherche de la tolérance au stress thermique (Spiertz *et al.*, 2006).

Dans la perspective de développer des génotypes tolérant à cette contrainte plusieurs caractéristiques physiologiques ont été proposées comme indicateurs associés à la tolérance du stress thermique. Parmi ces caractéristiques figurent la dépression de la température de la feuille étendard, celle de l'épi, l'intégrité de la membrane cellulaire, la fluorescence chlorophyllienne et la réflectance spectroscopique (Reynolds *et al.*, 1994; Fischer *et al.*, 1998 ; Ayeneh *et al.*, 2002; Balota *et al.*, 2007; Bilge *et al.*, 2008 ; Pask *et al.*, 2012).

Ayeneh *et al.*, (2002) rapportent une corrélation positive, élevée en valeur, entre la dépression de la température de la feuille étendard et de l'épi et le rendement sous contrainte thermique. La présence des barbes ne semble pas être liée à la tolérance du stress thermique selon Hatfield *et al.*, (1984). Ceci va à l'encontre des résultats qui postulent que les barbes jouent un rôle important dans le remplissage du grain sous stress thermique, bien après le dessèchement de la feuille étendard, aussi bien chez le blé tendre que chez l'orge (Ferguson *et al.*, 1973; Johnson *et al.*, 1974 ; Blum, 1986).

Le test de l'intégrité de la membrane cellulaire est basé sur la quantification de l'électrolyte qui est perdu par les disques du tissu foliaire échantillonné, après

imposition du stress thermique. La quantité d'électrolyte perdue, par la cellule, est une mesure du degré de tolérance des hautes températures (Fokar *et al.*, 1998; Ibrahim et Quick, 2001; Pask *et al.*, 2012).

Les dommages cellulaires causés par le stress thermique sont aussi quantifiés par la réduction du Triphenyl Tetrazolium Chloride (TTC) en formazan par l'enzyme mitochondrial déshydrogénase qui intervient dans le processus de la respiration (Porter *et al.*, 1995; Ibrahim et Quick., 2001). Fokar *et al.*, (1998) mentionnent que le test de TTC mesure l'intégrité de la chaîne de transport des électrons des mitochondries, sous stress et de ce fait il est indicateur de l'activité respiratoire sous stress thermique.

La photosynthèse est un processus très sensible au stress thermique, suite à la sensibilité de la membrane thylacoïdale (Takeuchi et Thornber., 1994; Demirevska-Kepova *et al.*, 2005). Le stress thermique endommage le photosystème II en supprimant les protéines favorisant l'émission de l'oxygène des thylacoïdes (Takeuchi et Thornber, 1994). Les dommages causés à la membrane thylacoïdale par le stress thermique induisent la perte de la chlorophylle, qui est mesurable facilement avec un chlorophylle mètre (Ristic *et al.*, 2007).

La mesure de la fluorescence chlorophyllienne est réalisée avec un fluoromètre (Ristic *et al.*, 2007). C'est une technique très efficace pour analyser le processus de la photosynthèse sous stress thermique (Maxwell et Johnson, 2000; Sayed, 2003). Le ratio de la fluorescence variable (F_v/F_m), qui est calculé par la différence entre les fluorescences maximale et minimale sur la fluorescence maximale (F_m), est une estimation de l'efficacité du photosystème II sous stress thermique (Rachmilevitch *et al.*, 2006).

Le ratio F_v/F_m est étroitement corrélé avec le rendement quantique de la photosynthèse nette des feuilles intactes subissant diverses intensités de photoinhibition (Moffat *et al.*, 1990). De ce fait la réduction du ratio F_v/F_m est un indice que le feuillage subit la photoinhibition induite par le stress thermique et l'irradiation (Clarke et Critchley, 1990 ; Moffat *et al.*, 1990 ; Flagella *et al.*, 1995).

La sénescence foliaire prématurée et la réduction de l'activité photosynthétique sont un signe des effets des hautes températures (Al-Khatib et Paulsen, 1984). La réflectance spectroscopique est une technique qui permet d'évaluer rapidement la tolérance au stress thermique (Dobrowski *et al.*, 2005; Babar *et al.*, 2006). La réflectance du spectre, dans la longueur d'onde visible (400-700 nm), est une fonction de la lumière absorbée par les chlorophylles, les caroténoïdes et les anthocyanines foliaires (Babar *et al.*, 2006).

Les plantes soumises à des stress abiotiques développent des réactions défensives. La résultante de ces réactions est l'activation de plusieurs gènes, qui réduisent l'expression de certaines protéines et activent la synthèse d'autres, dites protéines de choc thermique (Ougham et Stoddart, 1986 ; Maimiroli *et al.*, 1986 ; Clarke et Critchley, 1990 ; Vierling, 1991). Ces changements dans l'expression des gènes et des protéines synthétisées suggèrent que les protéines de choc thermique jouent un rôle crucial dans la tolérance du stress thermique et particulièrement dans la protection du photosystème II (Ougham et Stoddart., 1986 ; Komatsu *et al.*, 1999 ; Wang et Luthe., 2003).

La capacité des organismes à synthétiser les protéines de choc thermique, en réponse au stress thermique, est un système génétique très conservé chez plusieurs espèces de plantes (Lindquist et Craig., 1988). En effet, chez les plantes un choc thermique de 8 à 10°C au-dessus de la température normale de croissance, induit la synthèse des protéines de choc thermique.

La synthèse et l'accumulation des protéines de choc thermique sont accompagnées par une réduction de la synthèse des protéines produites en absence de stress (conditions normales de croissance). Ces protéines produites *de novo*, sous l'effet du stress thermique, sont bien corrélées avec l'acquisition de la tolérance du stress thermique (Lin *et al.*, 1984; Key *et al.*, 1985; Kimpel et Key, 1985; Sachs et Ho, 1986 ; Lindquist, 1986; Krishnan *et al.*, 1989).

Schuster *et al.*, (1988) rapportent que les protéines de choc thermique du chloroplaste, en particulier les HSP de 22 kilo dalton de taille (kD), protègent le photosystème II du centre réactionnel de l'algue verte (*Chlamydomonas reinhardtii*) des dommages causés par le choc thermique. Lin *et al.*, (1984) rapportent l'évidence que les HSPs dont la taille est de l'ordre de 15 kD, sont associées avec la membrane plasmique des cellules du soja et semblent intervenir dans la protection de l'intégrité de la membrane cellulaire.

Chou *et al.*, (1989) rapportent que les HSPs, dont la taille est dans le voisinage des 15 à 18 kD, ainsi que celles dont la taille est de l'ordre de 70 kD sont associées aux mitochondries isolées des feuilles étiolées de soja où elles semblent assurer la protection de la phosphorylation oxydative couplée à l'absorption de l'oxygène à 42.5°C. Selon Kimpel et Key (1985), les HSPs des plantes, sont classées en deux groupes, sur la base de leur poids moléculaire : les protéines de haut poids moléculaire (HMW), dont le poids est situé dans la tranche des 65 à 110 kD et les protéines à faibles poids moléculaire dont le poids varie de 15 à 27 kD (LMW).

L'électrophorèse sur gel de polyacrylamide des protéines solubles, extraites du feuillage de plantes soumises à un choc thermique, indique la présence des deux groupes de protéines de faible et haut poids moléculaires, quoique chez les plantes ce sont surtout les protéines de faibles poids moléculaires qui sont les plus nombreuses (Mansfield et Key, 1987).

Les LMW HSPs s'accumulent à des niveaux significatifs, chez les plantes soumises au choc thermique, et elles sont très diversifiées du point de vue poids moléculaire et coloration (Mansfield et Key, 1987). Sachs et Ho (1986) rapportent que les LMW HSPs dont la taille varie de 15 à 18 kD sont uniques chez les plantes. Ces protéines s'accumulent chez les plantules soumises au choc thermique de 34°C (Krishnan *et al.*, 1989), 40°C (Mansfield et Key., 1987) et à 41°C (Zivy., 1987).

La sélection en plein champs s'est montrée le plus souvent inefficace dans la discrimination des réponses des génotypes au stress. En effet le milieu extérieur se caractérise par une multitude de stress qui agissent en interaction rendant la sélection pour un stress donné difficile. Des tentatives sont faites pour sélectionner des génotypes tolérants sur la base de simples tests de laboratoire (Bousslama et Schapaugh, 1984 ; Ougham et Stoddart, 1986; Maimiroli *et al.*, 1986 ; Mohanty et Mohanty 1988 ; Clarke et Critchley., 1990 ; Moffat *et al.*, 1990 ; Saadalla *et al.*, 1990 ; Rizza *et al.*, 2004; Setimela *et al.*, 2005). C'est dans ce contexte que la présente investigation se fixe pour objectifs :

- d'évaluer la thermo tolérance des plantules de blé dur soumises au choc thermique, sur la base des caractères physiologiques dont la fluorescence chlorophyllienne, la proline, les sucres solubles, les protéines du choc thermique, la chlorophylle, la teneur relative en eau, la stabilité de la membrane plasmique, la surface de la feuille et la longueur du coléoptile, et
- d'analyser les relations entre ces caractères, mesurée sous conditions contrôlées et les indices de sensibilité S de Fisher et Maurer (1978), P de Lin et Binns (1988) et STI de Fernandez (1992), calculés sur la base des performances de rendement grain de plein champ.

MATERIEL ET METHODES

1- MATERIEL VEGETAL ET DISPOSITIF EXPERIMENTAL

1.1. MATERIEL VEGETAL

Huit variétés du blé dur (*Triticum durum* Desf.) communément nommées Bousselam, Gaviota durum, Waha, Korifla, Mrb₃, Ofanto, Vitron et Tajdid, fournies par l'Institut Technique des Grandes Cultures (ITGC) de Sétif, ont été utilisées comme matériel végétal (Tableau 2). Selon Hannachi (2013) Waha est une variété dont le pédigrée est *Plc/Ruff//Gta's/3/Rolette* provenant du croisement CM.17904, réalisé par Cimmyt (Mexique). Elle fut sélectionnée et proposée à l'inscription par l'ITGC, en 1985.

C'est une variété à paille relativement courte, précoce d'épiaison et très productive (Nouar *et al.*, 2010). Elle valorise nettement la fertilité des milieux que Bousselam et Mohamed Ben Bachir. Elle présente, cependant, une forte sensibilité au gel tardif (Mekhlouf *et al.*, 2006).

Elle occupe une large proportion des emblavements de blé dur au niveau national (Zaghouane *et al.*, 2008). Ofanto est issue du croisement italien *Adamelo /Appulo*. Elle fut introduite dans le cadre du projet de coopération ITGC- IAO. C'est une variété très productive, mais sensible à la variation des milieux (Annichiarico *et al.*, 2005). Gaviota durum est une variété issue du croisement réalisé par le Cimmyt, dont le pédigrée est *Gaviota/durum 69//Egret/3/Winged CD27516*. C'est une variété qui présente, avec le cultivar *Chen's*, une large adaptation à la région de production de blé dur couvrant les plaines intérieures et une grande partie des hauts plateaux (Annichirico *et al.*, 2005), présentée à l'inscription et recommandée à la grande culture par la station de l'Institut Technique des Grandes Cultures de Guelma (Hannachi., 2013). Bousalem, dont le pedigree est *Heider/Martes//Huevos de Oro*, est une nouvelle obtention. Elle

figure parmi les géotypes en tête de classement dans les essais multi-sites rapportés par Annichiarico *et al.*, (2005).

Tableau 2. Nom et pedigree des géotypes utilisés comme matériel végétal

Géotype	Pedigree	Orig- xment	Sélection
Bousselam	Heider/Martes//Huevos de Oro	Cimmyt	ITGC-Algérie
Gaviota dur	Gaviota/durum 69//Egret/3/Winged. CD27516	Cimmyt	ITGC-Algérie
Korifla	DS ₁₅ /Gieger	Cimmyt	ITGC-Algérie
Mrb ₃	Joric ₆₉ /Haurani	Cimmyt	ITGC-Algérie
Ofanto	Appulo/Valnova	Italie	Introduction
Vitron	Turkey ₇₇ /3/Jori/Anhinga//Flamingo	Espagne	ITGC-Algérie
Waha	Pelicano/Ruffino//Gaviota/Rolette	Cimmyt	ITGC-Algérie
Tajdid	Ofanto/Bousselam	ITGC-Algérie	ITGC-Algérie

1.2. DISPOSITIF EXPERIMENTAL

Les graines de chaque genotype ont été nettoyées et passées dans un tamis pour ne garder que celles qui sont uniformes et de taille acceptable. Chaque lot a été stérilisé par immersion dans une solution d’hypochlorite à 2% pendant 5 minutes, suivi d’un rinçage avec de l’eau distillée. Dans la première expérimentation, réalisée dans le laboratoire de physiologie de l’Université de Khenchela au cours de l’année 2012, 100 graines de chaque géotype ont été placées dans des boites de Petri à raison de 20 graines par boite, entre les feuilles de papier Watman imbibées d’eau pour la germination.

Les boites de Pétri ont été placées dans un germoir (La température est fixée à 25°C). Le septième jour, les boites de Pétri sont retirées du germoir, et les plantules, ayant une radicule longue d’au moins de 1 mm, sont transférées dans des pots de végétation en plastique dont le diamètre est de 15 cm, à raison de 10 plantules/pot, remplis d’un mélange de sol et de sable dans les proportions 1/3 sol : 2/3 sable (v/v). Les pots sont placés sous la température ambiante du laboratoire (moyenne de 20°C au mois d’avril), et arrosés quotidiennement durant une semaine.

Les plantules atteignant le stade 3 feuilles, sont dépotées, la partie racinaire lavée pour éliminer la terre adhérente, la première gerbe est réimplantée dans des pots à raison de 5 plantules/pot, placées sous la température ambiante du laboratoire c'est le témoin.

La seconde et la troisième gerbe sont placées dans un bain marie dont la température est fixée à 40°C et retirées après 30 et 60 minutes, respectivement et leurs plantules immédiatement transplantées (les stressés). Quarante-huit heures après transplantation la surface de la feuille la plus développée (SF, cm²) et la longueur du coléoptile ont été déterminées à raison de trois plantules par pot et par traitement.

Une seconde expérimentation a été réalisée dans les mêmes conditions et lieu pour la détermination de la teneur relative en eau, la stabilité de la membrane plasmique et le contenu en chlorophylle. Les plantules atteignant le stade 3 feuilles, sont dépotées et traitées comme mentionné précédemment, pour laver les racines et subir le choc thermique par gerbe de 10 plantules et de 2 gerbes par traitement.

Immédiatement après retrait du bain marie, les plantules sont essuyées avec du papier buvard, et utilisées pour la détermination des trois variables mentionnées ci-dessus, à raison de 2 plantules par variable, par répétition (3 répétitions) et par traitement.

La troisième et la quatrième expérimentation, semblables à celles décrites ci-dessus, la troisième été réalisé dans le laboratoire de physiologie de l'Université de Khenchela a servi à la détermination de la proline et les sucres totaux, la quatrième été réalisées sous serre vitrée de l'unité de Biotechnologie relevant du Centre Régional de la Recherche Agronomique (CRRA) de Rabat, INRA Maroc, au cours des mois de Décembre 2012 et de Janvier 2013. Cette expérimentations a été

réalisée dans le cadre de stages scientifiques effectués dans ce laboratoire et a servi à la détermination de la fluorescence chlorophyllienne et les protéines du choc thermique.

La cinquième expérimentation concerne le rendement et a été conduite dans le cadre d'une autre thèse (Nouar., 2015). Les rendements de cette expérimentation multi-sites (Nouar *et al.*, 2012) ont servi à la détermination des indices de tolérance S, P et STI, attribués, respectivement, à Fisher et Maurer (1978), à Lin et Binns (1988) et à Fernandez (1992).

1.3. MESURES ET NOTATIONS

1.3.1. SURFACE DE LA FEUILLE ET LONGUEUR DU COLEOPTILE

La surface foliaire (SF, cm²) de la feuille la plus développée est mesurée directement avec un planimètre électronique (area meter AM 300), de marque Opti Sciences (Figure 5). Celle du coléoptile (Col, cm) est déterminée par un double décimètre.



Figure 5. Planimètre électronique utilisé pour mesurer la surface foliaire (Area meter AM 300, (photo prise par Hamli, 2015).

1.3.2. TENEUR RELATIVE EN EAU

Les feuilles échantillonnées, 2 plantules par variable, par répétition (3 répétitions) et par traitement sont directement pesées pour avoir le poids frais (PF) puis sont immergés dans des tubes à essais contenant 10 ml d'eau distillée. Les échantillons sont mis au frais pendant 24 heures pour permettre leur complète hydratation.

Après réhydratation, les feuilles sont pesées pour avoir le poids turgide (PT) et sont placées dans une étuve à une température de 70°C pendant 24 heures pour obtenir le poids sec (PS). La teneur relative en eau est déterminée en utilisant la formule (Equation 1), rapportée par Teulat *et al.*, (1997) et attribuée à Barrs et Weatherley (1962):

$$\text{TRE (\%)} = [(\text{PF}-\text{PS}) / (\text{PT}-\text{PS})] \times 100 \text{ (Equation 1)}$$

1.3.3. STABILITE DE LA MEMBRANE PLASMIQUE

Le pourcentage de dommages cellulaires (Dom, %) causés par le choc thermique à la membrane est déterminé selon la méthode décrite par Ibrahim et Quick, (2001). Pour ce faire, la feuille la plus développée par traitement est lavée à l'eau courante puis découpées en morceaux de 1 cm de long. Cinq morceaux sont placés dans un tube à essai auquel on ajoute 10 ml d'eau double distillée. Les tubes sont fermés hermétiquement, 60 minutes après, la conductance de la solution est lue avec un conductimètre (lecture T₁).

Les tubes sont remis dans le bain marie porté à 100°C pendant 60 minutes pour détruire toutes les cellules du feuillage. Les tubes sortis du bain marie, sont refroidis à température ambiante, puis la lecture finale est faite au conductimètre, 24 heures après (lecture T₂). Le pourcentage des cellules endommagées par le choc

thermique (Dom, %) est estimé par la formule (équation 2) mentionnée par Ibrahim et Quick (2001):

$$\text{Dom (\%)} = (T1/T2) \times 100 \quad (\text{Equation 2})$$

1.3.4. CONTENU EN CHLOROPHYLLE

Le contenu en chlorophylle est déterminé selon la procédure décrite par Hiscox et Israelstam (1979). Un prélèvement de 100 mg de matière fraîche est obtenu du tiers médian de la feuille bien développée. Les échantillons foliaires sont broyés dans 10 ml d'acétone à 85 %.

Après filtration sur papier Wattman, l'absorbance de l'extrait est mesuré à l'aide d'un spectrophotomètre, model Sontays Techtron, 635, aux longueurs d'ondes 663 et 645 nm utilisant une cuvette en plastique de 1 cm d'épaisseur. La concentration en chlorophylle totale, exprimé en mg/g MF est déduite par la formule (équation 3) attribuée à Arnon (1949) par Richardson *et al.*, (2002) :

$$\text{Chl (mg/g MF)} = 20.2 A_{645} - 8.02 A_{663} \quad (\text{Equation 3})$$

1.3.5. FLUORESCENCE CHLOROPHYLLIENNE

Les mesures *in vivo* par des techniques biophysiques, basés sur la fluorescence ont été effectuées sur les feuilles des différents génotypes, pour estimer l'effet du choc thermique à l'aide d'un fluoromètre de marque Opti-Science 30 (Figure 6). La mesure de la fluorescence conduite selon la procédure décrite par Krause et Weis (1991).

La mesure est constituée de deux étapes, au cours de la première étape, on place un clip sur la feuille pour mettre la surface-test à l'obscurité pendant 12 minutes. Sur le plan physiologique, l'opération vide la chaîne de transfert

d'électrons de photons, et tous les transporteurs d'électrons se trouvent ainsi à l'état oxydé. Les centres réactionnels sont alors de ce fait totalement disponibles.



Figure 6. Fluoromètre Opti-Science 30 utilisé pour la mesure de la fluorescence (Photo prise par Hamli, 2015).

Au cours de la deuxième étape, l'envoi d'un flash lumineux sur la surface-test provoque la mise en route de toute la chaîne de transporteurs d'électrons. Les accepteurs d'électrons du PSII sont saturés. L'énergie lumineuse excédant les possibilités de collecte du PSII est réémise sous forme de fluorescence, l'intensité de fluorescence monte rapidement (1 seconde), d'une valeur initiale (F_0) vers une valeur maximale (F_m).

Le rendement quantique traduit alors l'efficacité du PSII à utiliser la lumière pour la reconversion photochimique (Krause et Weis, 1991). Selon Eyletters et Bourrié (1996) le rendement quantique prend une valeur égale 0,8 chez toute plante non stressée et diminue chez les plantes stressées.

Les mesures sont effectuées sur les feuilles attachées. Les données sont stockées dans l'appareil de mesure et ensuite transférées vers un ordinateur pour leur traitement. Une feuille est directement attachée au lecteur du fluoromètre à

l'aide d'un clip. La mesure est faite à la température ambiante. L'appareil enregistre automatiquement la fluorescence initiale (F₀) qui est la valeur minimale de la fluorescence lorsque tous les accepteurs d'électrons du (PS_{II}) sont complètement oxydés.

La fluorescence maximale (F_m) qui correspond à la valeur maximale de la fluorescence obtenue pour la même intensité lumineuse. Cette valeur est obtenue lorsque toutes les premières quinones acceptuses d'électrons sont complètement réduites. Le rendement quantique (RQ) est exprimé par le rapport donné par l'équation 4 suivante :

$$\text{RQ} = (\text{F}_m - \text{F}_0) / \text{F}_m = \text{F}_v / \text{F}_m \quad (\text{Equation 4})$$

F₀: fluorescence minimale

F_m: fluorescence maximale

F_v: la fluorescence variable.

1.3.6. PROTEINES DU CHOC THERMIQUE

La détermination des protéines totales est faite selon la méthode Laemmli (1970) décrite par De Leonardis *et al.*, (2007), qui utilise la technique de l'électrophorèse monodimensionnelle sur Gel de Polyacrylamide en présence de Sodium Dodécyl Sulfate (SDS-PAGE). Le SDS est un détergent anionique fort. Il a la propriété de défaire la structure spatiale en se fixant sur les protéines et de les charger de la même façon permettant ainsi de les séparer uniquement en fonction de leur masse moléculaire (Dicko, 2006). Avant de procéder à la dénaturation des protéines avec du SDS, on utilise un agent réducteur, le β-mercapto-éthanol qui réduit les ponts disulfures des protéines, les rendant ainsi sous forme monomérique.

Pour les besoins de l'extraction des protéines, on commence par le broyage, à l'aide d'un mortier et d'un pilon, de 100mg de feuilles par traitement, dans 1 ml de la solution de précipitation composée de 10 ml TCA (100%), 70 μ l de β -mercapto-éthanol et 100 ml d'acétone, le tout est homogénéiser dans un tube Eppendorf de 1.5 ml. On laisse reposer pendant 1h à - 20°C, puis on centrifuge pendant 15 mn à 4°C et à 13 000 rpm.

On élimine le surnageant délicatement en renversant le tube (le culot ne doit pas décoller). On lave, ensuite, les culots avec 1ml de la solution de rinçage composé de 70 μ l β -mercapto-éthanol et 100 ml d'acétone. On laisse reposer pendant 1h à - 20°C puis on élimine de nouveau délicatement le surnageant. On sèche les culots dans un dessiccateur pendant 20 mn à 60°C, après quoi on les réduit en poudre, en utilisant une baguette en verre.

On reprendre la poudre dans un volume de 100 μ l du tampon de solubilisation, *Laemmli buffer*, composé de 12.5 ml de Tris-HCl 0.5 M, pH 6.8 ; 2g de SDS, 10 ml de glycérol, 2 ml de β -mercapto-éthanol, 0.0025 g de bleu de bromophénol et de 100 ml d'eau distillée. On vortex les tubes Eppendorf pendant 5 min à 100°C, afin de favoriser la dénaturation des protéines. On centrifuge à 10000 rpm pendant 10 mn à 20°C (température ambiante) et on stocke à -20°C. Juste avant les dépôts, on décongèle les échantillons, on mélange doucement et on centrifuge à 10000 rpm pendant 10 mn à 20°C.

Pour réaliser le dépôt des échantillons et la migration des protéines totales (Figure 7), on utilise deux types de gels : un gel de séparation et un gel de concentration. Pour le gel de séparation, une concentration finale d'acrylamide du 14 % a été choisie. Ce type de gel permet le fractionnement des protéines selon leur poids moléculaire. Il est préparé selon Laemmli (1970) avec 0.025 APS, 0.1 SDS, 0.135 g Bis acrylamide, 4.537 g Tris-HCl, 9.865g Acrylamide et 62.5 μ l/100 TEMED. Pour le gel de concentration, une concentration de 4% est préparée avec

0.01g APS, 0.025g SDS, 0.0135g Bis-acrylamide, 0.378g Tris-HCl, 0.9865g Acrylamide et 20 μ l TEMED.

Ce type de gel assure une entrée homogène de l'échantillon analysé dans le gel de séparation (Jang promma *et al.*, 2007). On dépose 40 μ l d'extrait par puits à l'aide d'une micro-seringue. Le premier puits est généralement réservé pour des standards de poids moléculaires connus. Les cuves de l'électrophorèse sont remplies de tampon de migration. Les électrodes de la cuve sont reliées au générateur (Figure 7).

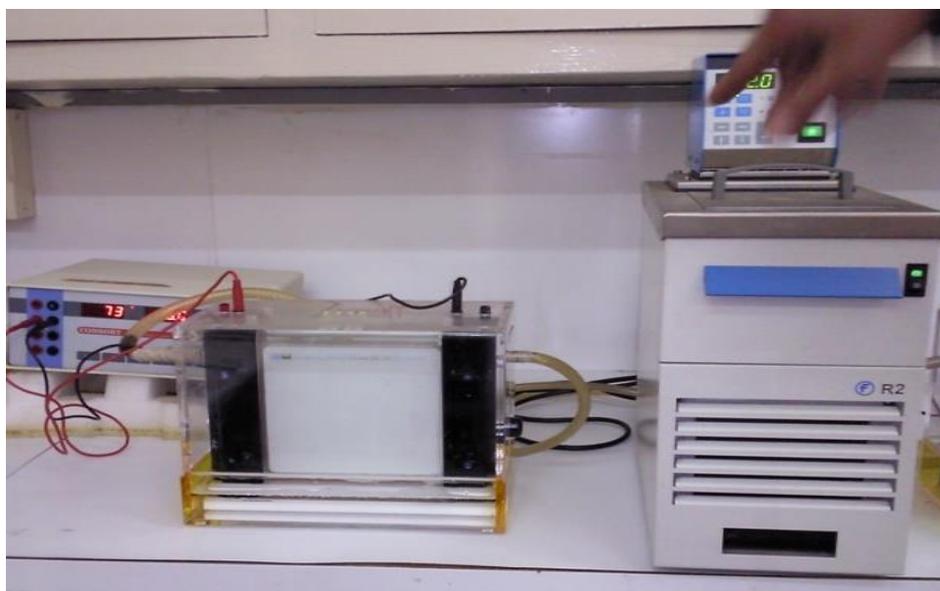


Figure 7. L'électrophorèse sur gel de polyacrylamide (Photo prise par Hamli, 2015).

Une tension électrique de 80 mA est appliquée entre les électrodes (Dicko, 2006). Une fois la migration terminée, il faut attendre une dizaine d'heures (une nuit) jusqu'à ce que le front de migration des bandes atteigne le bord inférieur des plaques, pour les retirer.

Les gels sont retirés des plaques et colorés pendant une nuit dans 300 ml solution de coloration constituée de 300 ml M éthanol, 60 ml Acide Acétique, 240

ml H₂O et 0.75 g bleu de coomassie R-250. Les gels sont décolorés par une solution de décoloration, contenant 150 ml méthanol (15%), 100 ml d'acide acétique (10%) et 750 ml H₂O pendant une nuit et ensuite lavés avec de l'eau distillée plusieurs fois.

Les gels obtenus sont photographiés et analysés par comparaison avec les marqueurs protéiques de différentes masses moléculaires provenant d'un kit Sigma. Ces protéines standards (marqueurs) sont M0671 - 0.5ML Recombinant Molecular Weight Marker mol wt 15 - 150 KDa et C3187 - 0.5ML Color Marker Low Range, mol wt 6,5 - 45 KDa.

1.3.7. ACCUMULATION DE LA PROLINE

La proline a été déterminée selon la procédure décrite par Bates *et al.*, (1973). L'extraction est faite sur un échantillon foliaire de 0.5 g mis dans le tube à essai et auquel on ajoute 1 mL d'acide 5-sulfosalicylique à 3% (w/v), et on agite pendant 20 minutes. 100 µL aliquotes sont pipetés dans un tube à essai proche qu'on ajuste à 1mL avec l'eau double d'ionisée.

1.0 mL d'acide ninhydrique (préparé par un mélange de 1.25 g de ninhydrine + 30.0 mL d'acide acétique glacial + 13.8 mL d'acide phosphorique à 85% + 6.2 mL d'eau double d'ionisée) et 1.0 mL d'acide acétique glacial sont ajoutés aux tubes à essai. Les tubes ainsi traités sont agités pendant 1 minute et incubés dans un bain marie à 100°C pendant 60 minutes.

La réaction est arrêtée en plaçant les tubes à essai dans un bain de glace fondante. Les tubes sont retirés du bain de glace, on leur ajoute 4 mL de toluène à chaque tube. Les tubes sont agités pendant 1 minute puis laissés pendant 5 minutes pour la décantation et la séparation des deux phases. 3.0 mL de la phase supérieure, contenant le toluène, sont pipetés dans une cuvette.

L'absorbance est lue à une longueur d'onde de 520 nm dans un spectrophotomètre (Sontays Techtron 635 spectrophotometer), utilisant le toluène pour la zéro de l'appareil. Une courbe d'étalonnage de l'appareil a été préparée en utilisant des concentrations connues de proline, de 10 à 100 µg/mL, par pas de 10 µg/mL. La concentration de la proline des différents traitements est déduite par référence à la droite de régression de la courbe d'étalonnage.

1.3.8. ACCUMULATION DES SUCRES TOTAUX

Les sucres totaux ont été déterminés par la méthode de Yemm et Willis (1954). 100 mg de plante matériel sont extraits dans une solution d'éthanol à 80%. L'extrait est incubé pendant 6 heures à 60°C puis utilisé pour l'estimation des sucres totaux. Le réactif d'anthrone a été préparé en dissolvant 150 mg d'anthrone dans une solution d'acide H₂SO₄ à 72%. L'extrait végétatif est pipeté dans des tubes à essai, et 6 ml du réactif d'anthrone sont ajoutés à chaque tube à essai, qui sont chauffés dans un bain marie à 100°C pendant 10 minutes.

Les tubes à essai sont refroidis dans un bain de glace fondante pendant 10 minutes. Puis ils sont laissés pour décanter à la température ambiante pendant 30 minutes. La densité optique est lue à 625 nm sur un spectrophotomètre de type Sontays Techtron 635 spectrophotometer. La concentration des sucres totaux solubles des différents traitements est estimée en utilisant l'équation de la courbe d'étalonnage du spectrophotomètre.

1.3.9. INDICES DE TOLERANCE

Les indices de tolérance calculés sont l'indice S de Fisher et Maurer (1978) qui est déduit par la formule suivante (Equation 7) :

$$S = [1 - (Y_s/Y_{ns})] / [1 - (\bar{Y}_s/\bar{Y}_{ns})], \quad (\text{Equation 7}),$$

où Y_s est le rendement grain du génotype sous stress,

Y_{ns} = rendement du même génotype en absence du stress

\bar{Y}_s = moyenne des rendements de l'ensemble de génotypes testés sous stress et,

\bar{Y}_{ns} = moyenne des rendements de l'ensemble de génotypes testés en absence de stress.

L'indice de la supériorité génotypique P de Lin et Binns (1988) est donné par la formule suivante (Equation 8) :

$$P_i = \frac{\sum(Y_{ij} - M_j)^2}{2n}, \quad (\text{Equation 8})$$

Où Y_{ij} = est le rendement du génotype i dans l'environnement j

M_j = est le rendement du meilleur génotype dans l'environnement j

n = est le nombre d'environnements testés qui est égale à 5 dans le cas de la présente étude (Nouar *et al.*, 2012).

L'indice de tolérance au stress (STI) de Fenandez (1992) est déduit par la formule suivante (Equation 9) :

$$STI = \frac{(Y_s \times Y_{ns})}{Y_{ns}^2}, \quad (\text{Equation 9})$$

où Y_s est le rendement grains du génotype sous stress,

Y_{ns} = rendement du même génotype en absence du stress

Y_{ns}^2 = moyenne des rendements des génotypes testés du site favorable

2. ANALYSE DES DONNEES

Une analyse de variance à deux facteurs a été utilisée pour tester les effets moyens choc thermique et génotype et l'interaction des différentes variables mesurées dans les différentes expérimentations réalisées, selon la procédure

décrite par Steel et Torrie (1980). Un indice de sensibilité au choc thermique (HSSI = Heat Shock Susceptibility Index) a été calculé pour certaines variables. Cet indice est similaire à celui rapporté par Jiang *et al.*, (2006) et il est calculé par génotype comme suit (Equation 10) :

$$\text{HSSI (\%)} = (Y_s/Y_c) \times 100, \quad (\text{Equation 10})$$

Où Y_s est la moyenne du paramètre mesuré sous choc thermique et Y_c est la moyenne du même paramètre mesuré en absence du choc thermique ou chez le témoin.

Les relations entre les différentes variables mesurées, et les indices de tolérance, dont le calcul est basé sur la variation du rendement grain, ont été analysées par les coefficients de corrélation, calculées avec les valeurs observées relativisées par rapport aux valeurs du témoin (HSSI) transformées en ordre de classement (rangs). Les données ont été traitées avec les logiciels cropstat 7.2. 3. (2007) et Past (Hammer *et al.*, 2001).

RESULTATS ET DISCUSSION

1. LA FLUORESCENCE CHLOROPHYLLIENNE

1.1. EFFET MOYEN DU CHOC THERMIQUE

L'analyse de la variance des paramètres de la fluorescence indique un effet intensité du stress thermique significatif, sauf celui du paramètre F_0 , un effet génotype non significatif et une interaction génotype x intensités du stress thermique significative pour tous les paramètres mesurés : F_m , F_v/F_m , F_0 et F_v (Tableau 3). La signification statistique de l'interaction suggère que la réponse des génotypes évalués diffère en fonction du degré de l'intensité du stress thermique subi et du caractère mesuré (Tableau 3).

Tableau 3. Moyennes des carrés des écarts de l'analyse de la variance des paramètres de la fluorescence chlorophyllienne mesurés sur huit génotypes de blé dur testés pour leur tolérance au choc thermique de trois intensités (HS= 0, 30 et 60 min) à 40°C, au stade plantule.

Sources de variation						
	HS	Rép/(HS)	Génotype (G)	G x HS	Erreur	
Paramètres	ddl	2	6	7	14	42
F_0		2249.79 ^{ns}	1424.05	3739016.00 ^{ns}	12000.70*	2015.28
F_m		1853290.00*	15603.20	399383.00 ^{ns}	198178.00*	13462.50
F_v/F_m		0.14476.00*	0.00595	0.01972 ^{ns}	0.01531*	0.00173
F_v		1739830.00*	10456.80	401337.00 ^{ns}	196589.00*	9575.10

ns, * = effet non significatif et significatif respectivement à 5% de probabilité.

La signification statistique de l'effet moyen du degré d'intensité du choc thermique indique que les paramètres de la fluorescence chlorophyllienne F_m , F_v , et F_v/F_m diminuent alors que le paramètre F_0 ne montre pas de variation significative (Figure 8, Tableau 4).

Les paramètres F_m , F_v , and F_v/F_m accusent des diminutions relatives de 12.9, 18.2 et 8.1%, respectivement, sous choc thermique d'une intensité de 30 minutes. Sous choc thermique d'intensité de 60 minutes, la réduction relative de ces mêmes paramètres est de 27.3, 37.4 et 20.2%, respectivement (Tableau 4, Figure 8).

Des réductions similaires des valeurs des différents paramètres de la fluorescence chlorophyllienne, dues à l'effet du choc thermique, sont rapportées par Araus et Hogan, (1994) ainsi que par Long *et al.*, (1994). La réduction observée, sous choc thermique, des valeurs du ratio F_v/F_m est due pour une grande part à celle notée chez le paramètre F_m . En effet les valeurs prises par le paramètre F_0 sont relativement stables sous l'effet du choc thermique (Tableau 4).

Tableau 4. Effet moyen de l'intensité du choc thermique (HSI) des paramètres de la fluorescence chlorophyllienne (moyennes calculées sur les huit géotypes de blé dur testés pour leur tolérance au choc thermique de trois intensités : 0, 30 et 60 min à 40°C, au stade plantule.

HSI	F_0	F_M	F_V	F_V/F_M
0	591.54	2029.96	1438.42	0.74
30	590.90	1766.66	1175.76	0.68
60	574.46	1474.44	899.98	0.59
Lsd _{5%}	26.65	88.20	72.20	0.05

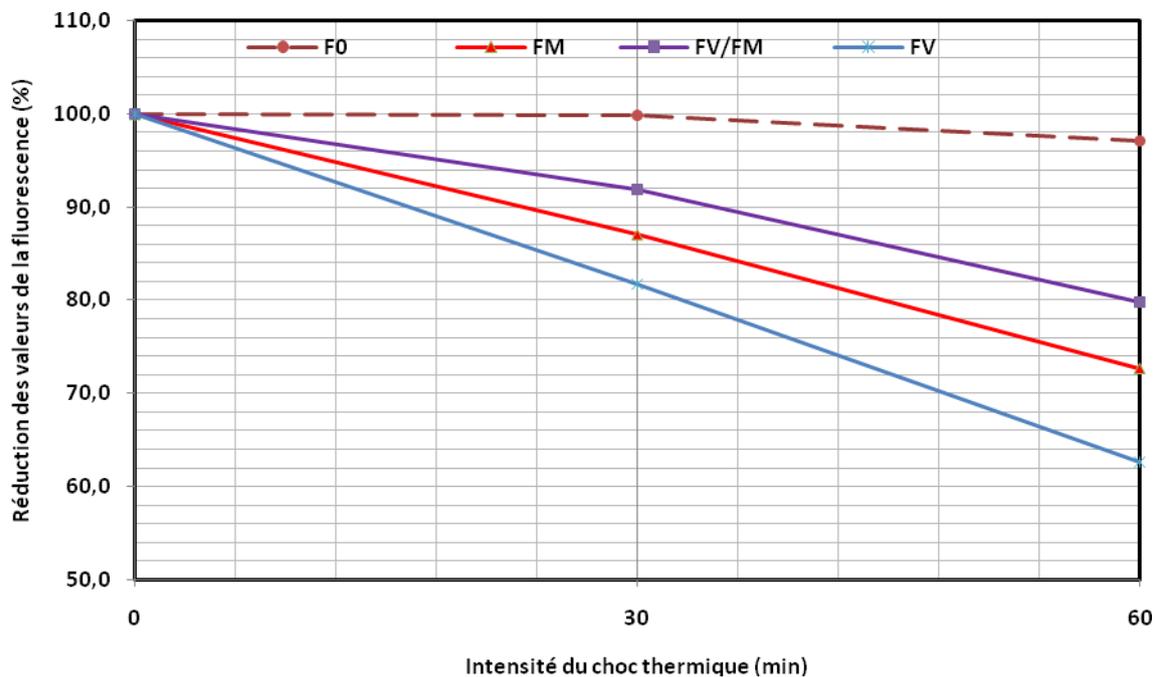


Figure 8. Réduction relative des valeurs des paramètres de la fluorescence chlorophyllienne sous l'effet du choc thermique.

Ces résultats suggèrent que la capacité d'absorption de la lumière par la chlorophylle est réduite sous l'effet du choc thermique, en moyenne, chez les huit

génotypes évalués dans la présente étude. Ceci rejoint les résultats rapportés par Flagella *et al.*, (1994) qui concluent que les paramètres F_v et F_v/F_m sont des indicateurs quantitatifs de mesure de l'efficacité photochimique du PSII. Des conclusions similaires sont rapportées par Adams *et al.*, (1990) ainsi que par Mishra et Singhal (1992). La fluorescence chlorophyllienne fournit, en effet, des informations sur l'état d'activité du PSII, qui montre les signes de dommages causés par le stress thermique (Maxwell et Johnson, 2000).

Les mêmes constatations et conclusions sont rapportées par Mishra et Singhal (1992) qui mentionnent que le traitement des feuilles du blé par un choc thermique induit une réduction du paramètre F_v et du ratio de la fluorescence variable à la fluorescence maximale (F_v/F_m).

Ces réductions sont liées à celle du paramètre F_m , sous choc thermique sévère, vu que F_v est égale à la différence entre F_m et F_0 . F_0 est mesurée à l'état initial après déchargement des transporteurs d'électrons qui se trouvent à l'état oxydé. Par contre F_m est mesuré au moment du plein fonctionnement des photosystèmes lorsque les transporteurs d'électrons sont réduits.

Mishra et Singhal (1992) émettent plusieurs hypothèses explicatives de la réduction des valeurs du paramètre F_m suite à l'effet du choc thermique dont (1) des modifications structurales du PSII induites par le choc thermique, (2) augmentation de l'énergie d'excitation émise sous forme de fluorescence, (3) augmentation de l'énergie d'excitation émise sous forme chaleur, et (4) transfert de l'énergie en faveur du PSI.

En effet, lorsque la photosynthèse fonctionne avec un rendement maximum, les photons absorbés sont piégés rapidement par les centres de conversion photochimique (PSI et PSII), ce qui limite leur dissipation par fluorescence. Sous l'effet du choc thermique qui affecte le rendement des photosystèmes, les photons

absorbés par les chlorophylles s'accumulent en grande partie dans l'antenne chlorophyllienne où ils sont dissipés soit sous forme de chaleur, soit par fluorescence. L'intensité de la fluorescence est, par conséquent, liée au fonctionnement du PSII.

1.2. EFFET MOYEN DU GENOTYPE

L'analyse de la variance indique un effet moyen génotype non significatif pour l'ensemble des paramètres mesurés de la fluorescence chlorophyllienne (Tableau 3). Calculées sur les huit génotypes les moyennes des paramètres F_0 , F_m , F_v et F_v/F_m sont 585.0, 1757.0, 1171.1 et 0.67, respectivement (Tableau 5). Seul le paramètre mesurant la fluorescence variable (F_v) est significativement corrélé avec celui de la fluorescence maximale (F_m), avec un coefficient de corrélation de 0.9953**.

Tableau 5. Effet moyen génotype des paramètres de la fluorescence chlorophyllienne (moyennes calculées sur les trois intensités du choc thermique) mesurés sur blé dur au stade plantule.

Génotype	F0	FM	FV	FV/FM
Bousselam	578.28	1528.56	950.28	0.70
Gta <i>durum</i>	615.94	1821.67	1205.72	0.67
Korifla	586.83	1523.78	936.94	0.61
Mrb ₃	577.00	2013.17	1436.17	0.71
Ofanto	587.28	1797.00	1209.72	0.66
Tajdid	551.72	1623.09	1071.37	0.68
Vitron	610.83	1665.72	1054.89	0.59
Waha	577.17	2083.17	1506.00	0.72
Moyenne	585.00	1757.00	1171.05	0.67
Lsd5%	110.76	450.10	448.29	0.13

Ces résultats indiquent qu'en moyenne des traitements du stress thermique, les moyennes des paramètres de la fluorescence chlorophyllienne ne sont pas significativement différentes. Les différences éventuelles sont à chercher dans le comportement des génotypes en fonction des traitements du stress thermique.

1.3. INTERACTION CHOC THERMIQUE X GENOTYPES

1.3.1. LA FLUORESCENCE MINIMALE (F₀)

L'analyse des données de l'interaction génotype x traitements du choc thermique de la variable F₀ indique des comportements très contrastés (Tableau 6, Figure 9). Ainsi les génotypes Bousselam, Mrb₃ et Ofanto présentent une F₀ dont les valeurs baissent à mesure que l'intensité du choc thermique augmente, comparativement aux valeurs prises par le témoin non stressé.

Cette baisse varie 87.2 à 65.8% de la valeur du témoin qui est de 685.3 pour Bousselam ; de 97.61 à 87.56% chez Mrb₃ dont la valeur du témoin est de 607.0, alors que chez Ofanto, la réduction varie de 85.9 à 85.1% pour une valeur du témoin de 650.0 (Tableau 6, Figure 9).

Les génotypes Waha et Korifla présentent une F₀ dont les valeurs varient peu en fonction de l'intensité du choc thermique, entre 568.5 et 588.5 pour Waha et entre 577.0 et 622.5 pour Korifla, respectivement pour les traitements témoin et 60 minutes de choc thermique (Tableau 6, Figure 9).

Les valeurs F₀ de Gaviota *durum* et Vitron augmentent en fonction de la sévérité du choc thermique, passant de 549.8 chez le témoin à 674.0 pour le traitement de 60 minutes de choc thermique, chez Gaviota *durum*, soient des augmentations de 13.5 à 22.6%.

Alors que chez Vitron ces valeurs passent de 570.3, chez le témoin, à 659.7 pour le traitement de 60 minutes de choc thermique, soient des augmentations de 5.6 et 15.6%, respectivement (Tableau 6, Figure 9). La valeur F₀ du génotype Tajdid augmente de 17.6% à 30 minutes, puis revient, pour 60 minutes de choc thermique, à une valeur égale à celle du témoin non stressé (Tableau 6, Figure 9).

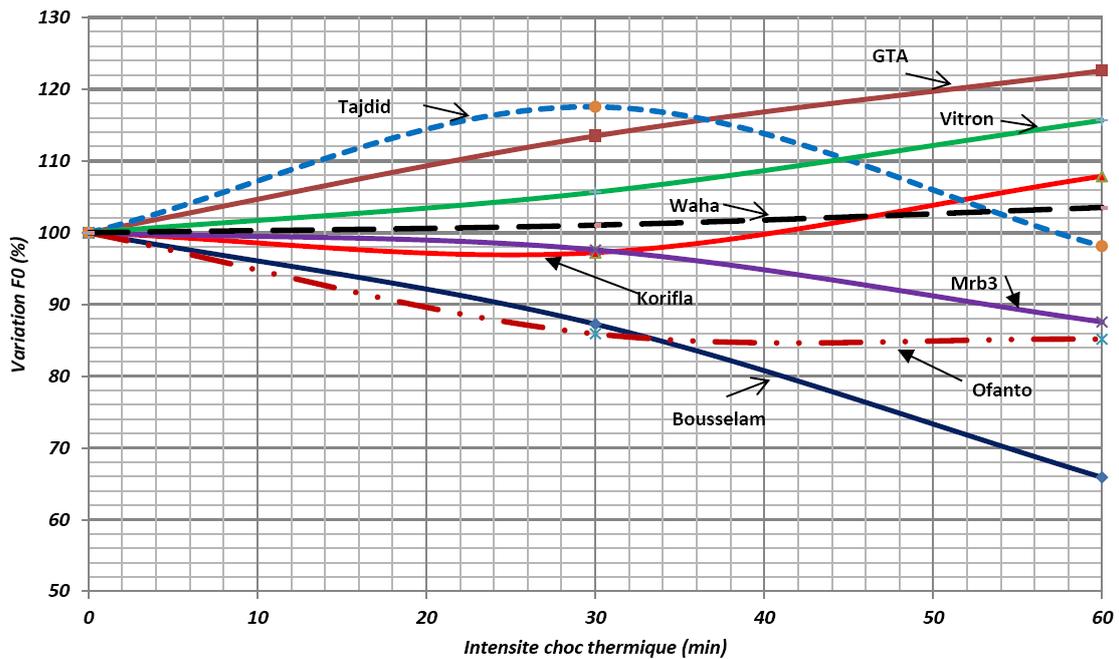


Figure 9. Variation relative des valeurs prises par le paramètre F0 de la fluorescence chlorophyllienne en fonction des génotypes et du choc thermique.

Selon Krause, (1988) ainsi que Bolhar-Nordenkamp *et al.*, (1989) une augmentation de la valeur du paramètre F_0 est indicatrice du dysfonctionnement des centres réactionnels du PS_{II} et des difficultés de transfert de l'énergie d'excitation des antennes vers les centres réactionnels. La résultante est un blocage du transfert de l'énergie d'excitation (Bukhov *et al.*, 1990). Ce blocage conduit à un excès d'énergie d'excitation qui est soit dissipé sous forme de chaleur ou bien redistribué au photosystème I (Schreiber *et al.*, 1986).

Araus *et al.*, (1998) mentionnent que les génotypes performants sous conditions limitantes (esquive) présentent des valeurs élevées du paramètre F_0 , associées à de faibles valeurs du paramètre F_m . Sur la seule base des valeurs du paramètre F_0 , Gaviota *durum*, Vitron et à degré moindre Tajdid se présentent comme des génotypes tolérants au choc thermique, comparativement aux génotypes Mrb3, Bouselam et Ofanto qui se montrent très sensibles. Alors que les valeurs de F_0 ne discriminent pas entre les génotypes Waha et Korifla (Tableau 6, Figure 9).

Tableau 6. Valeurs moyennes des paramètres de la fluorescence chlorophyllienne mesurés sur huit géotypes de blé dur soumis au choc thermique à trois intensités à 40°C au stade plantule.

HS	Géotype	F ₀	F _m	F _v	F _v /F _m
0	Bousselam	685.33	1454.67	769.33	0.775
0	<i>Gta durum</i>	549.83	2036.83	1487.00	0.740
0	Korifla	577.00	2138.50	1561.50	0.730
0	Mrb3	607.00	2405.00	1798.00	0.747
0	Ofanto	650.00	2425.50	1775.50	0.732
0	Tajdid	524.33	1780.50	1256.17	0.759
0	Vitron	570.33	1911.50	1341.17	0.720
0	Waha	568.50	2087.17	1518.67	0.716
30	Bousselam	598.00	1846.67	1248.67	0.666
30	<i>Gta durum</i>	624.00	1605.50	981.50	0.611
30	Korifla	561.00	1371.83	810.83	0.693
30	Mrb3	592.50	1973.50	1381.00	0.700
30	Ofanto	558.33	1644.50	1086.17	0.658
30	Tajdid	616.33	1782.77	1166.43	0.690
30	Vitron	602.50	1784.50	1182.00	0.660
30	Waha	574.50	2124.00	1549.50	0.730
60	Bousselam	451.50	1284.33	832.83	0.672
60	<i>Gta durum</i>	674.00	1822.67	1148.67	0.650
60	Korifla	622.50	1061.00	438.50	0.413
60	Mrb3	531.50	1661.00	1129.50	0.676
60	Ofanto	553.50	1321.00	767.50	0.580
60	Tajdid	514.50	1306.00	791.50	0.603
60	Vitron	659.67	1301.17	641.50	0.383
60	Waha	588.50	2038.33	1449.83	0.707
	Ppds ^{5%}	73.97	191.17	161.23	0.069

1.3.2. LA FLUORESCENCE MAXIMALE (F_M)

L'analyse des données de l'interaction géotype x traitements du choc thermique de la variable F_m indique des comportements très variés (Tableau 6, Figure 10). Ainsi la valeur F_m du géotype Bousselam augmente de 26.9% à 30 minutes, puis revient, à 60 minutes de choc thermique, à une valeur de 1284.3, légèrement inférieure à celle du témoin non stressé (1454.6) (Tableau 6, Figure 10).

Le paramètre F_m caractéristique du cultivar Waha se montre peu sensible au choc thermique. Les valeurs F_m de ce cultivar oscillent entre 2124.0 et 2038.3, soit une variation entre 97.6 et 101.6% la valeur du témoin non stressé (Tableau 6, Figure 10).

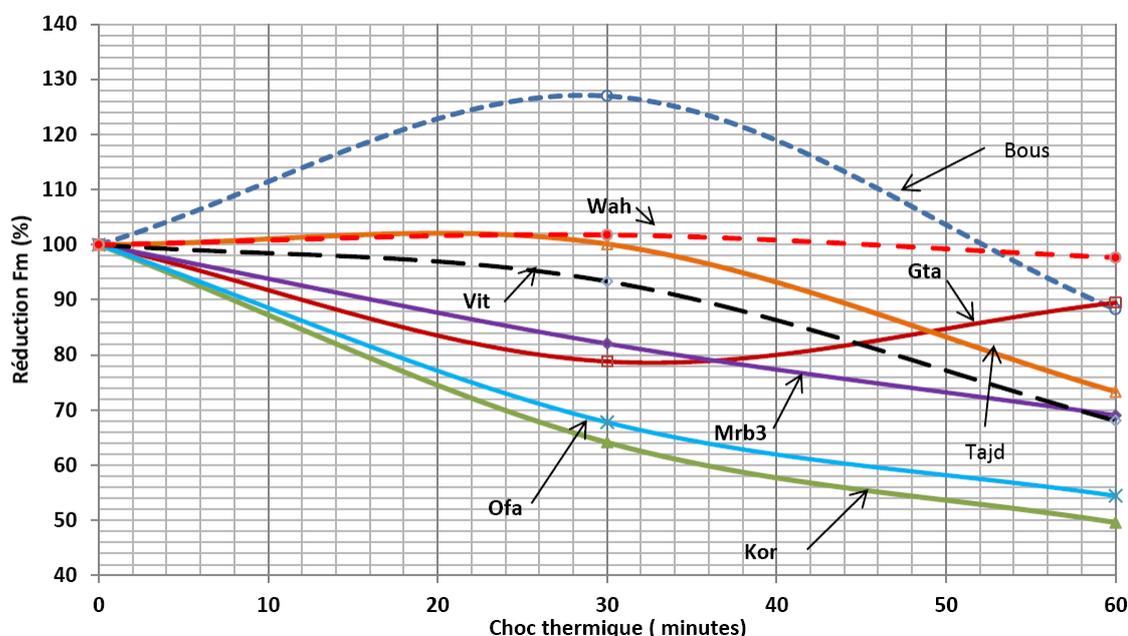


Figure 10. Variation relative des valeurs prises par le paramètre F_m de la fluorescence chlorophyllienne en fonction des génotypes et du choc thermique.

Les génotypes Korifla et Ofanto accusent des baisses significatives des valeurs du paramètre F_m , sous choc thermique. Les valeurs de ces variétés en absence de stress sont de 2138.5 et 2425.5, respectivement. Les réductions sous stress sont de 50% pour Korifla et 46% pour Ofanto, après 60 minutes de choc thermique (Tableau 6, Figure 10). Gaviota *durum*, Mrb₃, Vitron et Tajdid présentent des baisses de la valeur du paramètre F_m de l'ordre de 30%, comparativement aux valeurs enregistrées chez les témoins de ces variétés (Tableau 6, Figure 10).

1.3.3. LA FLUORESCENCE VARIABLE (FV)

L'analyse des données de l'interaction génotype x traitements du choc thermique de la variable F_v indique des comportements très variés mais qui restent

assez similaires à celles notées pour le paramètre F_m (Tableau 6, Figure 11). En effet la valeur F_v de Bousselam augmente de 769.3 chez le témoin à 1248.6 à 30 minutes de choc thermique, puis revient, à 60 minutes de choc thermique, à une valeur de 832.8, légèrement supérieure à celle du témoin non stressé.

L'augmentation sous choc thermique de 30 minutes est de l'ordre 62.3% (Tableau 6, Figure 11). Le paramètre F_v caractéristique du cultivar Waha se montre, là aussi, peu sensible au choc thermique. Les valeurs F_v de ce cultivar oscillent entre 1449.8 et 1549.5, soit une variation entre 95.5 et 102.0% de la valeur du témoin non stressé (Tableau 6, Figure 11).

Korifla et Ofanto accusent des baisses significatives des valeurs du paramètre F_v , sous choc thermique. Les valeurs de ces variétés en absence de stress sont de 1564.5 et 1774.5, respectivement. Les réductions sous stress sont de 57.0% pour Ofanto et de 72.0% pour Korifla, après 60 minutes de choc thermique (Tableau 6, Figure 11).

Gaviota *durum*, Mrb₃, Vitron et Tajdid présentent des baisses de la valeur du paramètre F_v de l'ordre de 22.7, 37.2, 26.9, et 52.2%, respectivement comparativement aux valeurs enregistrées chez les témoins de ces variétés (Tableau 6, Figure 11). Une diminution du paramètre F_v , qui fait suite à une diminution du paramètre F_m est aussi indicatrice du quenching non photo chimique (Bolhar-Nordenkampf *et al.*, 1989).

1.3.4. LE RENDEMENT QUANTIQUE (F_v/F_m)

L'analyse des données de l'interaction génotype x traitements du choc thermique du rendement quantique (F_v/F_m) indique trois comportements typiques. Celui représenté par le cultivar Waha qui se montre insensible au choc thermique et dont le rendement quantique varie de 0.716, en absence de stress à 0.730 et 0.707

sous choc thermique d'une durée de 30 et 60 minutes, respectivement. En pourcentage, ces valeurs varient de 98.7 à 101.9% (Tableau 6, Figure 12).

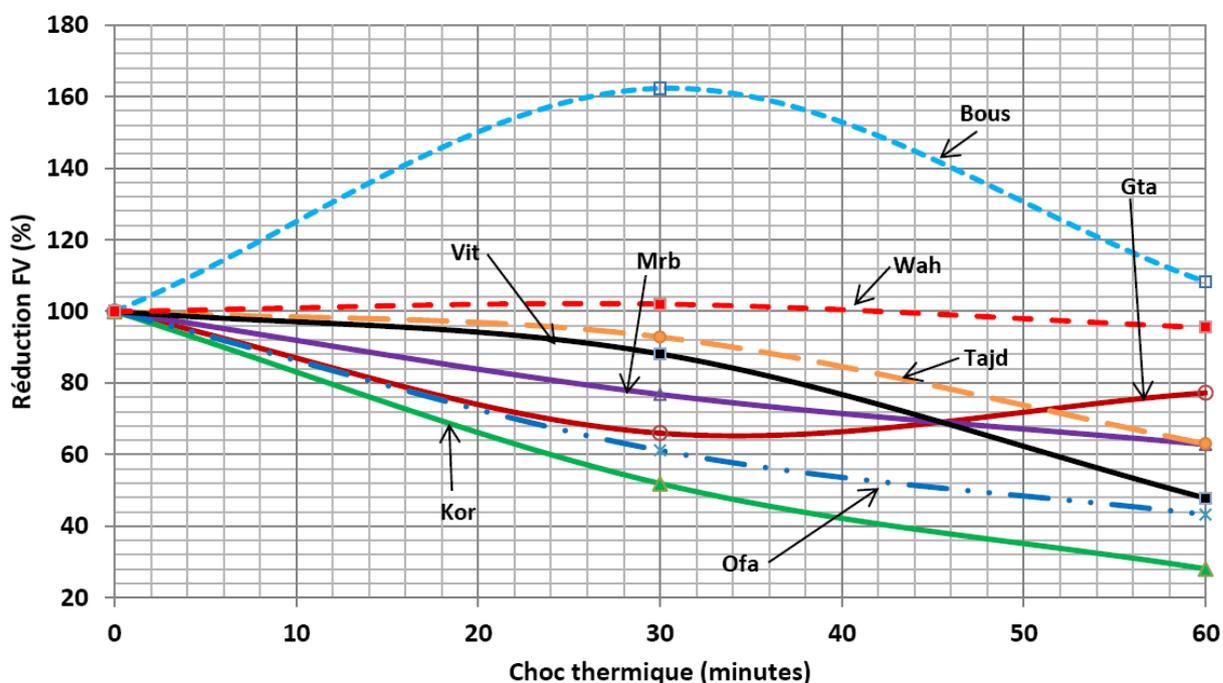


Figure 11. Variation relative des valeurs prises par le paramètre F_v de la fluorescence chlorophyllienne en fonction des génotypes et du choc thermique.

Le second comportement est représenté par les génotypes Bousselam, Gaviota *durum*, Mrb₃, Ofanto et Tajdid qui accusent une baisse du rendement quantique, sous choc de 30 minutes, de l'ordre de 11.5% et de l'ordre 15.5% sous choc de 60 minutes. Les moyennes du rendement quantique de ces génotypes sont de 0.751, 0.665 et 0.636, en absence de stress et sous choc thermique de 30 et 60 minutes, respectivement (Tableau 6, Figure 12).

Le troisième comportement typique est celui représenté par les génotypes Korifla et Vitron qui accusent une baisse de rendement quantique modérée de 7.0%, sous choc de 30 minutes, et une baisse élevée de 45.1%, sous choc de 60 minutes. Le rendement quantique de ces deux génotypes varie de 0.730 à 0.413 pour Korifla et 0.720 à 0.383 pour Vitron (Tableau 6, Figure 12).

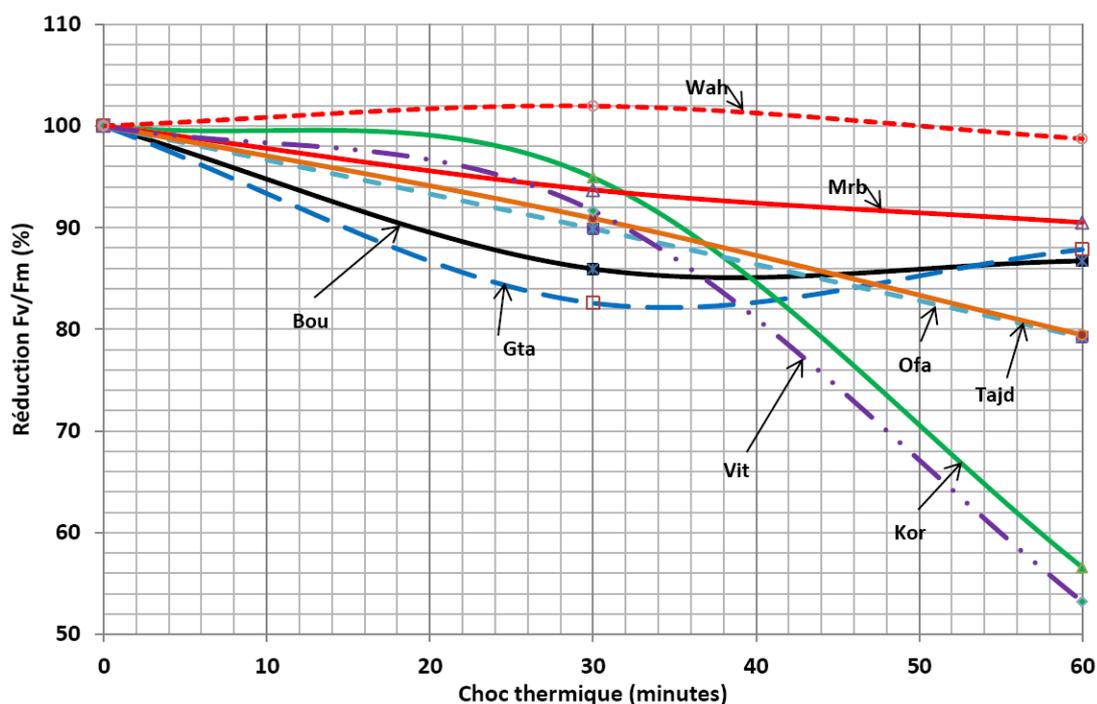


Figure 12. Variation relative des valeurs du rendement quantique (F_v/F_m) de la fluorescence chlorophyllienne en fonction des génotypes et du choc thermique.

Pour estimer l'efficacité photochimique maximale du PS_{II} (F_v/F_m), Jagtap *et al.*, (1998) ont montré que le déficit hydrique engendre une diminution importante du rapport F_v/F_m chez cinq variétés de *Sorghum bicolor* L. Moench. Par contre, Lu et Zhang (1999) n'ont observé aucun changement au niveau du F_v/F_m mesuré après une adaptation des feuilles de blé à l'obscurité sous des déficits hydriques modérés et sévères.

Les différences notées entre les génotypes pour les paramètres de la fluorescence, dans cette étude, est spécialement le rendement quantique indiquent que cette technique est utile comme outil de criblage de la tolérance au stress thermique chez le blé dur. Plusieurs études ont été conduites pour évaluer la tolérance au stress thermique en utilisant cette technique.

Les résultats de ces études montrent que le rendement quantique, qui est de l'ordre de 0.830 chez les plantes non stressées, baisse de manière différenciée chez les génotypes soumis au stress et selon leur degré de tolérance au stress imposé

(Waines, 1994 ; Xu *et al.*, 1999 ; Lu et Zhang, 2000 ; Vani *et al.*, 2001 ; Xu *et al.*, 2001).

Ainsi Babani et Mathis (1995) soumettent cinq géotypes de blé à un stress de 40°C pendant une durée de 4 heures et rapportent une baisse significative des valeurs des paramètres de la fluorescence et de l'efficacité du PS_{II}. Lu et Zhang (2000) rapportent que des températures modérées, de l'ordre de 25 à 37.5°C, ne montrent pas de changements significatifs des valeurs prises par les paramètres de la fluorescence. Cependant des températures de l'ordre de 40 à 45.5°C produisent un effet significatif sur le ratio F_v/F_m qui accusent des baisses importantes.

Balota et Lichenthaler (1999) mentionnent qu'un stress thermique modéré causé par une température de 35°C, appliqué à des plantules de blé, induit des changements dans les valeurs des paramètres de la fluorescence. Appliquant un stress hydrique au blé dur, Balouchi (2010) rapporte une variation du rendement quantique avec des différences significatives entre les géotypes étudiés.

La baisse des valeurs des paramètres de la fluorescence chlorophyllienne et notamment celle du rendement quantique s'expliquent par le dysfonctionnement de l'appareil photosynthétique. Ce dysfonctionnement est induit par l'excès l'énergie d'excitation qui n'est plus utilisée par les centres réactionnels qui sont endommagés par le stress.

Cet excès d'énergie est dissipé sous forme de chaleur ou de fluorescence (dit atténuation ou quenching non-photochimique qui affecte davantage le PS_{II} ou il est transféré au centre réactionnel du PS_I (Asada, 1999). En effet, les deux photosystèmes (PS_{II} et PS_I) sont reliés par une chaîne de transporteurs d'électrons qui permettent la synthèse d'ATP et de NADPH₂.

La réduction du ratio F_v/F_m est un indice que le feuillage subit la photoinhibition induite par le stress thermique et l'irradiation (Clarke et Critchley,

1990 ; Moffat *et al.*, 1990 ; Flagella *et al.*, 1995). Plus les dégâts occasionnés par le stress sont importants et plus ce rapport tend vers 0 chez les génotypes sensibles au stress. De ce fait les résultats obtenus de cette étude indiquent une diversité appréciable d'une variété à l'autre en ce qui concerne la réduction du rapport Fv/Fm.

Le génotype Waha est très tolérant au choc thermique appliqué au stade plantule, vu que le rapport Fv/Fm de ce génotype est peu affecté par le choc thermique. Par contre Korifla et Vitron accusent des baisses élevées du rendement quantique traduisant une inhibition de l'extinction de la fluorescence.

Ces différences assez importantes entre les variétés résistantes et les variétés sensibles suggèrent que le rendement quantique peut servir comme test d'évaluation de la résistance au choc thermique des variétés de blé dur. A cet effet Sipos et Prange (1986) suggèrent que les mesures doivent être faites sur des plantes ayant le même âge ou bien tenir compte de la stabilité des paramètres de la fluorescence en effectuant plusieurs mesures répétées dans le temps.

Les changements induites à l'activité photosynthétique en réponse au stress sont mentionnés dans de nombreuses études (Ali-Dib *et al.*, 1994; Van Rensburg et Kruger, 1993). Cependant peu de ces études ont tenté de lier les paramètres de la fluorescence chlorophyllienne à la variation du rendement ou à des indices de tolérance intégrant cette variable.

2. LES PROTEINES DU CHOC THERMIQUE (HSPS)

Une diversité quantitative appréciable de protéines synthétisées apparaît, aussi bien chez les traitements témoins que chez les traitements ayant subis le choc thermique. Ainsi en absence de choc thermique, le nombre de bandes protéiques varie d'une bande observée chez Ofanto à 9 bandes présentes chez *Gta durum*. Après un traitement de 30 minutes de choc thermique, il y a augmentation du

nombre de bandes protéiques exprimées chez les différents géotypes traités. Ce nombre varie de 6 bandes chez Ofanto à 13 bandes présentes chez Mrb₃ (Figure 13).

Cette augmentation quantitative du nombre de bandes exprimées est notée chez tous les géotypes sauf chez les variétés Gaviota *durum* et Korifla où ce nombre a plutôt régressé, passant de 9 à 8 bandes et de 8 à 7 bandes, respectivement chez le témoin et le traité (Figure 13).

Sous traitement de 30 minutes, l'augmentation du nombre de bandes exprimées est importante chez les variétés Mrb₃ et Tajdid où ce nombre passe de 6 à 13 chez le premier géotype et de 4 à 11 chez le second géotype cité, soit des augmentations relatives de 53% et 63%, respectivement (Figure 13).

Sous traitement de choc thermique d'une durée de 60 minutes, le nombre de bandes protéiques exprimées régresse de manière générale, avec cependant une variation appréciable entre géotypes. Ainsi des régressions, relativement au nombre observé sous choc thermique de 30 minutes, sont notées chez Bouselam, Korifla, Mrb₃, Ofanto, Tajdid et Vitron ; par contre il y a augmentation du nombre de bandes chez les géotypes Gaviota *durum*, et Waha (Figure 13).

Globalement, on note quatre comportements typiques. Le premier est représenté par des géotypes dont le nombre de bandes initialement induit augmente sous stress modéré puis diminue sous stress sévère. C'est le cas de Bouselam, Mrb₃, Ofanto, Tajdid et Vitron.

Le second comportement est celui des géotypes dont le nombre initial de bandes diminue puis augmente et c'est le cas du géotype Gaviota *durum*. Le troisième comportement est celui des géotypes dont le nombre de bandes présentes diminue progressivement en fonction du stress et c'est le cas du géotype Korifla. La quatrième comportement est celui des géotypes dont le

nombre de bandes augmente en fonction du stress, et c'est le cas du cultivar Waha (Figure 13).

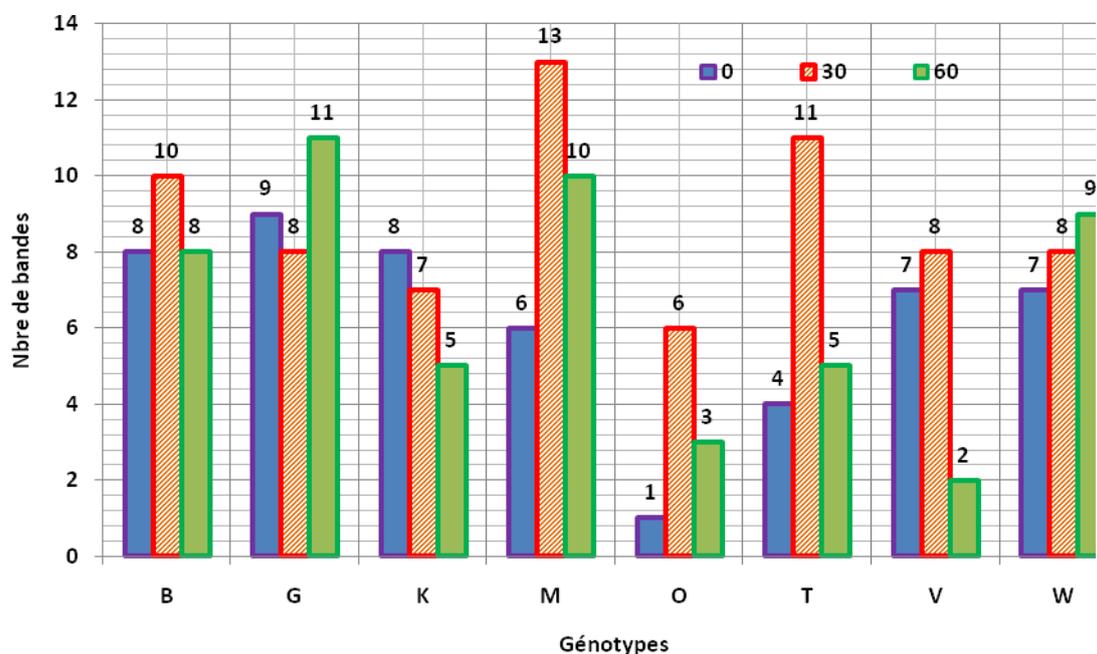


Figure 13. Variation quantitative du nombre de bandes protéiques observées chez les différents génotypes et traitements de choc thermique (B= Bousselam, G= Gaviota durum, K= Korifla, M= Mrb3, O= Ofanto, T= Tajdid, V= Vitron, W= Waha).

Du point de vue qualitatif, on note une grande diversité des protéines exprimées dont le poids moléculaire varie de 4 à 168 kD. Ces bandes protéiques sont concentrées surtout dans la tranche des poids moléculaires de 10-20 kD, 45-60 kD, 70 kD, 100 kD et 160 kD (Tableau 7, Figure 14 et 15). Les variétés Ofanto, Vitron et Tajdid présentent une plus grande diversité de poids moléculaires des bandes protéiques exprimées que les autres génotypes.

Comparativement au témoin non soumis au stress, le choc thermique induit chez le cultivar Bousselam, la synthèse de nouvelles protéines de 8 et 78 kD, à 30 minutes et la répression des protéines de 71 et 100 kD, concomitante à la synthèse de nouvelles protéines de 83 et 104 kD sous stress de 60 mn. Chez le cultivar Gaviota *durum* la répression de la protéine de 10 kD, à 30 minutes et à 60

minutes et la synthèse de nouvelles protéines de taille 8 et 49 kD (Tableau 7, Figures 14 et 15).

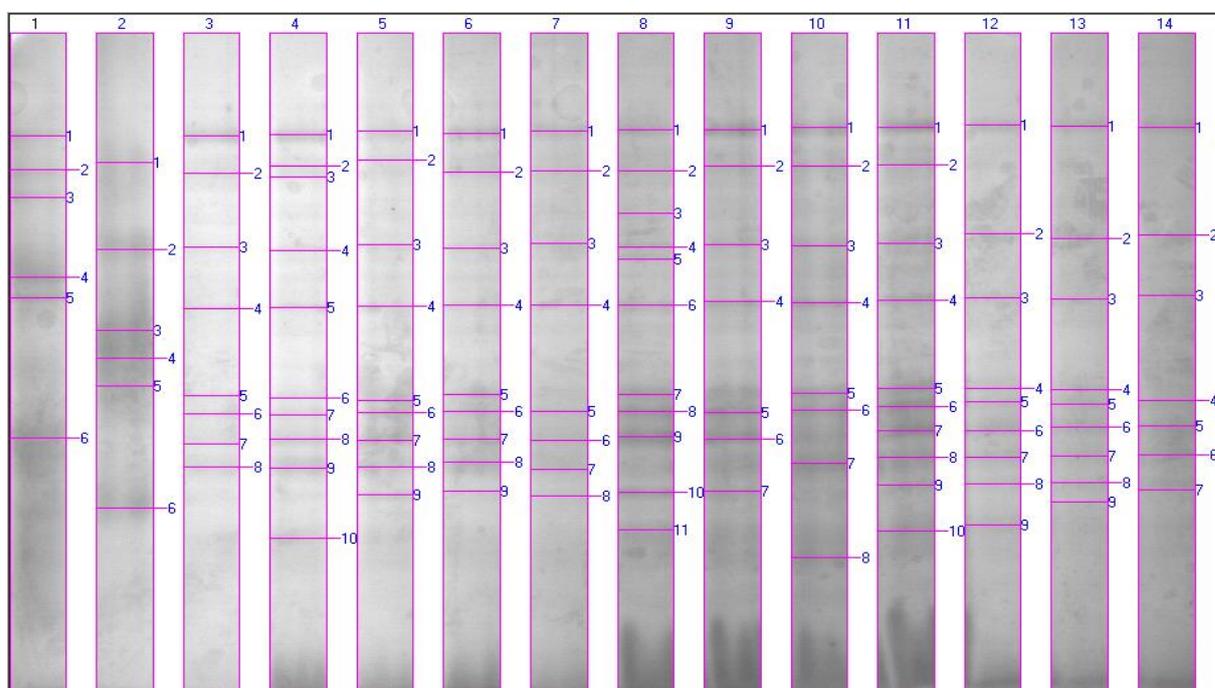


Figure 14. Profil électrophorétique des protéines totales des feuilles de Bousselam (puits 3, 4, 5), Gaviota durum (6, 7, 8), Waha (9, 10, 11) et Korifla (12, 13, 14) soumis au choc thermique de 0, 30 et 60 minutes à 40°C, respectivement (1 et 2 marqueurs de poids moléculaires).

Chez Korifla, le choc thermique induit la répression des protéines de 9 kD à 30 minutes et de 9, 10, 12 kD à 60 minutes de choc thermique. Chez ce cultivar il n'y a pas d'induction de la synthèse de nouvelles protéines. Le stress auquel est soumis le génotype Mrb₃ induit la synthèse de plusieurs nouvelles protéines dont les protéines de 5, 11, 47, 48, 59, 60, 80 et 168 sous choc de 30 minutes et 11, 48, 60, 80 et 89 sous choc de 60 minutes. La protéine de 111 kD, qui était présente chez le témoin, a été réprimée sous choc thermique de 30 et de 60 minutes (Tableau 7, Figures 14 et 15). Une seule bande protéique de taille 47 kD était présente chez le témoin d'Ofanto. Cette protéine a été réprimée à 30 et 60 minutes de choc thermique.

Tableau 7. Présence /absence des bandes protéiques, selon le poids moléculaire, chez les huit géotypes de blé dur soumis au choc thermique à trois intensités à 40°C au stade plantule (vert=synt/repress, Jaune= témoin).

PM	B	B1	B2	G	G1	G2	K	K1	K2	M	M1	M2	O	O1	O2	T	T1	T2	V	V1	V2	W	W1	W2
168	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
167	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
166	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
163	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0
162	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
161	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
121	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0
111	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
108	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
107	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
106	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
104	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
103	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1
102	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
101	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
99	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0
95	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
93	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
89	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
88	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
83	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
81	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
79	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1
78	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
74	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
73	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
72	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
71	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
68	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
66	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
59	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
52	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
49	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
48	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
47	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
46	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
45	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1
44	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
42	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
35	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
31	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0
14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1
12	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1
11	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
10	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
9	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Les nouvelles induites par le stress à 30 sont de taille 4, 12, 35, 102 et 163 kD et celles induites sous choc de 60 minutes sont de taille 12, 102 et 163 kD (Tableau 7, Figures 14 et 15). Chez le génotype Tajdid, de nombreuses protéines sont induites par le choc thermique aussi bien à 30 comme à 60 minutes. Ces protéines ont les tailles suivantes 5, 29, 45, 48, 52, 74, 88 et 99 kD à 30 minutes et 5, 45, 88 et 99 kD à 60 minutes.

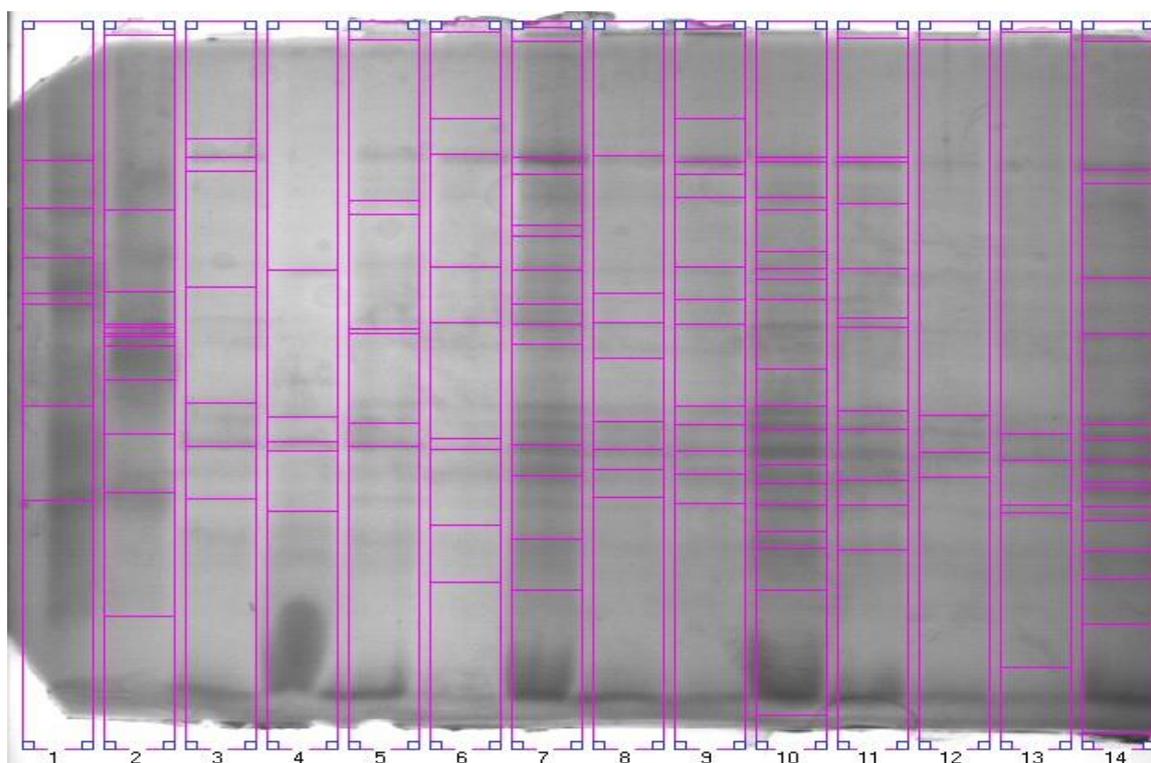


Figure 15. Profil électrophorétique des protéines totales des feuilles de Mrb3 (puits 3, 4, 5), Ofanto (6, 7, 8), Vitron (9, 10, 11) et Tajdid (12, 13, 14) soumis au choc thermique de 0, 30 et 60 minutes à 40°C, respectivement (1 et 2 marqueurs de poids moléculaires).

La réponse du génotype Vitron au choc thermique s'est caractérisée par l'induction de nouvelles protéines de taille 29 et 99 kD à 30 minutes et la répression de la protéine de taille 72 kD. A 60 minutes, il y a eu répression de cinq protéines de 12, 72, 79, 103 et 12 kD de tailles. Le choc thermique de 30 minutes induit la synthèse de nouvelles protéines de 6 et 10 kD et la répression d'une protéine de taille 11 kD, chez Waha.

Chez le même cultivar et sous choc thermique de 60 minutes il y a induction d'une protéine de 8 kD de taille et la répression d'une autre protéine de 23 kD de taille (Tableau 7, Figures 14 et 15). La classification des huit génotypes soumis au choc thermique a été réalisée sur la base du poids moléculaire des protéines synthétisées (Figure 16).

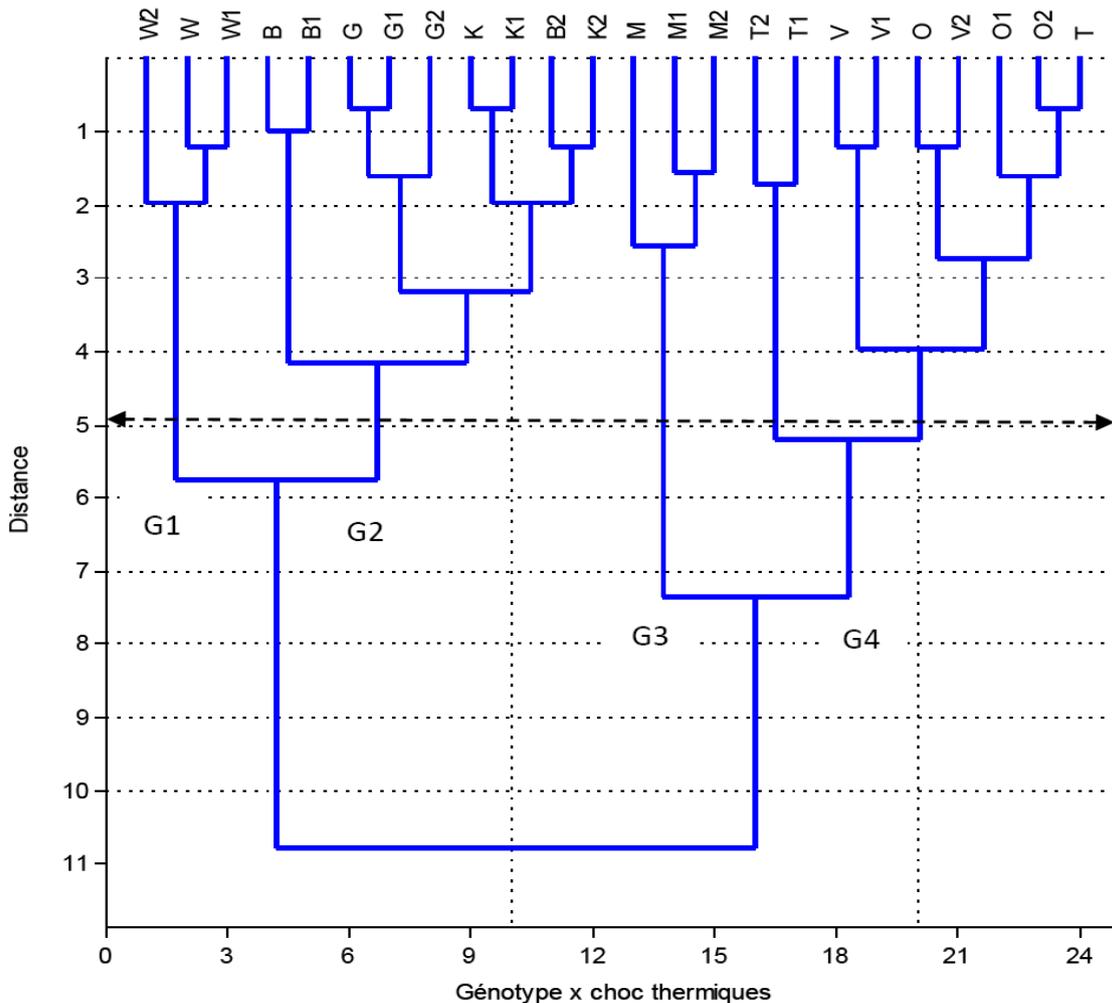


Figure 16. Groupage des génotypes sur la base du poids moléculaire des protéines synthétisées en absence et sous choc thermique de 30 et 60 minutes à 40°C.

Les résultats de ce classement indiquent l'existence de quatre groupes différents. Les groupes G₁ et G₃ représentent les comportements des génotypes Waha et Mrb₃, respectivement. Le groupe G₂ est constitué par les génotypes Bouselam, Gaviota *durum* et Korifla ; alors que le groupe G₄ est constitué par les génotypes Ofanto, Vitron et Tajdid (Figure 16). Les différences entre groupes sont

essentiellement liées à la présence des protéines induites et à l'absence de celles qui sont réprimées (Tableau 7).

Al-Whaibi (2011) mentionne que les protéines de choc thermique sont rarement détectables chez les plantes conduites sous conditions normales de températures. De ce fait les protéines qui ont été synthétisées de nouveau, chez les génotypes soumis au choc thermique, faisant l'objet de la présente étude, appartiennent à la classe des HSPs. Savic *et al.*, (2012) observent l'accumulation significative des HSP₁₈ et HSP₂₁ chez les cultivars tolérants et sensibles, tous deux soumis au stress thermique.

Cependant il y avait une surexpression ou suraccumulation de ces protéines notamment la HSP₁₈ chez le génotype tolérant plus que chez le génotype sensible. La HSP₁₈ s'accumule 1.8 à 3 fois plus chez le génotype tolérant que chez le génotype sensible.

La différence entre les génotypes tolérants et sensibles au choc thermique, du point de vue synthèse des HSPs réside, donc, dans le fait que l'accumulation des HSPs est plus intense chez les génotypes tolérants que chez les génotypes sensibles. Selon Savic *et al.*, (2012), il y a une moindre activation des gènes concernés chez les génotypes sensibles que chez les génotypes tolérants.

La recherche de génotypes résistants au choc thermique est devenue une priorité suite aux changements climatiques qui prévoient un échauffement global (Kim et al. 2007 ; Lobell et Field 2007). Les plantes possèdent toute une série de caractères physiologiques qui leur permettent de survivre et croître sous stress. Parmi ces caractéristiques, les HSPs sont indicatrices de l'expression de la tolérance et de l'acquisition de la thermo-tolérance au stress thermique.

La capacité des organismes à synthétiser les protéines de choc thermique, en réponse au stress, est un système génétique très conservé chez plusieurs espèces

de plantes (Lindquist et Craig, 1988). Lin *et al.*, (1984) rapportent l'évidence que les HSPs dont la taille est de l'ordre de 15 kD, sont associées avec la stabilité de la membrane plasmique chez le soja.

Les protéines de faible poids moléculaire (LMW) s'accumulent chez les plantules soumises au choc thermique de 34°C (Krishnan *et al.*, 1989), 40°C (Mansfield et Key, 1987) et à 41°C (Zivy, 1987). Pour démontrer la signification particulière d'une HSP dans le développement de la tolérance au stress thermique Ahn et Zimmerman (2006) utilisent l'approche transgénique.

Des lignées transgéniques ont été produites pour exprimer constitutivement le gène *DcHSP17.7* de la carotte. Le transgène produit présente une amélioration de la stabilité membranaire et une nette augmentation de la capacité de tubérisation, comparativement à l'écotype sauvage et au témoin.

Des résultats similaires ont été obtenus par Murakami *et al.*, (2004) qui produisent un riz transgénique pour le même gène *DcHSP17.7* de la carotte sous le contrôle du promoteur CaMV35S. Le transgène produit se montre plus tolérant au stress thermique. Ces résultats confirment l'implication des HSP dans l'acquisition de la thermo tolérance. La synthèse des HSPs et le développement de la tolérance au stress thermique sont significativement corrélés (Murakami *et al.*, 2004 ; Ahn et Zimmerman, 2006).

La synthèse des protéines normalement produites en absence de stress est réprimée à des degrés variables sous choc thermique (Key *et al.*, 1981) . Abernethy *et al.*, (1989) observent l'accumulation d'une diversité importante de HSPs dont la taille varie de 14, 40, 46 et 58 à 60 kD chez des plantules de blé tendre soumises au choc thermique pendant 90 minutes à 38°C. Les HSPs synthétisées par les plantes appartiennent à six classes structurellement différentes : les Hsp100, Hsp90, Hsp70, Hsp60 (Chaperonnes), les HSps de faible

poids moléculaire variant de 17 à 30 kDa et les ubiquitines de taille de l'ordre de 8,5 kDa (Vani *et al.*, 2001 ; Xu *et al.*, 2001).

Les HSPs d'une même famille montrent des différences en termes de fonctions spécifiques (Vani *et al.*, 2001). Les HSPs de faible poids moléculaires sont les plus abondantes chez les plantes qui en produisent plus d'une vingtaine. La synthèse et l'accumulation des HSPs est accompagnée par une réduction des protéines normalement synthétisées en absence de stress, cette accumulation est positivement corrélée avec l'acquisition de la tolérance thermique (Lin *et al.*, 1984; Krishnan *et al.*, 1989). Les fonctions physiologiques spécifiques des différentes HSPs ne sont pas totalement élucidées chez les plantes, cependant des évidences suggèrent qu'elles sont associées avec les chloroplastes notamment la HSP de 22 kD qui évite les dommages au PS_{II} au cours du choc thermique (Schuster *et al.*, 1988).

La HSP dont le poids moléculaire est dans la tranche des 15 kD est associée à la membrane plasmique chez le soja où elle assure la stabilité de la membrane vis-à-vis du stress thermique (Lin *et al.*, 1984). Chou *et al.* (1989) rapportent que les HSPs dont la taille est dans la tranche des 15 à 18 kD ainsi que la protéine de choc thermique de 70 kD sont associées aux mitochondries chez le soja où elles assurent la protection de la phosphorylation oxydative sous choc thermique.

Les résultats de cette étude corroborent ceux de Yamaguchi *et al.*, (1995) qui notent une augmentation graduelle du nombre de nouvelles protéines synthétisées en fonction du choc thermique avec un maximum observé sous stress de 120 minutes à 40°C. Cherian *et Ferreira* (2010) rapportent aussi que des protéines sont synthétisées notamment celles de faible poids moléculaire de 15 à 30 kDa et d'autres réprimées.

3. PROLINE ET SUCRES SOLUBLES

L'analyse de la variance des contenus en proline et en sucres indique un effet choc thermique et une interaction génotype x chocs thermiques significatifs. L'effet moyen génotype n'est significatif que pour le contenu en sucres et non significatif pour le contenu en proline (Tableau 8). Les moyennes enregistrées pour l'effet moyen du choc thermique varient de 26.04 à 54.09 µg/ml pour la proline et de 50.79 à 99.15 µg/ml pour les sucres, respectivement chez le témoin non stressé et chez le traitement de 60 minutes de choc thermique de 40°C (Tableau 9).

Tableau 8. Moyennes des carrés des écarts de l'analyse de la variance du contenu en proline (Pro, µg/ml), du contenu en sucres (Suc, µg/ml), des dommages de la membrane cellulaire (Dom, %), de la teneur relative en eau (TRE, %), de la longueur du coléoptile (Col, cm), du contenu en chlorophylle (Chl, mg/g MF), et de la surface de la feuille (SF, cm²), des huit génotypes de blé dur testés pour leur tolérance au choc thermique de trois intensités (HS= 0, 30 et 60 min) à 40°C, au stade plantule.

Sources de variation						
	HS	HS/Rép	Génotype (G)	G x HS	Erreur	
Variables	ddl	2	6	7	14	42
Pro (µg/ml)		3627.6**	17.48	696.8 ^{ns}	486.4**	10.95
Suc (µg/ml)		14052.9**	89.96	1331.1*	380.9**	153.13
Chl (mg/g MF)		25.5**	0.07	12.1*	2.8**	0.08
Dom (%)		3415.5**	9.80	44.4 ^{ns}	35.3**	6.03
TRE (%)		1198.4**	4.52	9.5 ^{ns}	31.3**	6.16
Col (cm)		3.7**	0.09	1.4**	0.18**	0.06
SF (cm ²)		2.52*	0.72	4.5**	1.3*	0.36

ns, * = effet non significatif et significatif respectivement à 5% de probabilité.

Tableau 9. Effet moyen de l'intensité du choc thermique des paramètres mesurés

HS	Prol	Suc	Chl	Dom	TRE	Col	SF
0	26.03	50.79	3.98	11.12	88.64	3.99	6.44
30	39.25	73.19	2.81	23.82	84.94	3.84	5.49
60	54.09	99.15	1.92	34.96	74.97	3.25	4.58
Ppds _{5%}	2.95	6.69	0.18	2.21	1.5	0.21	0.6

Pro = proline, µg/ml; Suc = Sucres totaux, µg/ml ; Dom= Dommages cellulaires, % ; TRE= teneur relative en eau, % ; Col= coléoptile, cm ; Chl= Chlorophylle, mg/g MF ; SF= surface de la feuille, cm².

Ces résultats indiquent qu'en moyenne sur l'ensemble des huit génotypes évalués, les contenus en proline et en sucres augmentent significativement. Ceci suggère que le choc thermique induit une accumulation accrue de ces deux

osmolytes. Cette augmentation est, pour la proline, de 51.03 et de 108.14% respectivement sous traitements de 30 et de 60 minutes relativement à la valeur moyenne accumulée en absence du choc thermique. Pour les mêmes traitements l'augmentation du contenu en sucres est respectivement de 44.09 et de 95.18%.

L'analyse de l'effet moyen génotype qui est significatif pour le contenu en sucres indique qu'en moyenne des traitements du choc thermiques, les cultivars Bousselam, Waha et Tajdid accumulent significativement plus de sucres que les génotypes Korifla et Mrb₃, dont les moyennes sont, respectivement, de l'ordre de 88.00 et 60.00 µg/ml (Tableau 10). Ces résultats suggèrent que, si l'expression du contenu en sucres est dépendante de l'intensité du stress, elle est aussi influencée par le fond génétique évalué.

Tableau 10. Effet moyen génotype du contenu en proline (Prol, µg/ml), du contenu en sucre (Suc, µg/ml), des dommages de la membrane cellulaire (Dom, %), de la teneur relative en eau foliaire (TRE, %), de la longueur du coléoptile (Col, cm), du contenu en chlorophylle (Chl, mg/g MF), et de la surface de la feuille (SF, cm²) des huit génotypes de blé dur testés pour leur tolérance au choc thermique de trois intensités (HS= 0, 30 et 60 min) à 40°C, au stade plantule.

Génotype	Prol	Suc	Chl	Dom	TRE	Col	SF
Bousselam	34.65	88.80	2.43	22.21	82.55	4.03	6.0
Gaviota dur	49.44	69.94	1.85	22.40	81.08	4.05	5.2
Korifla	31.04	59.91	4.56	24.12	83.04	3.53	6.0
Mrb ₃	34.67	60.05	4.16	25.44	83.78	2.98	5.8
Ofanto	54.91	65.82	4.07	26.26	84.37	3.95	4.5
Tajdid	33.67	86.56	2.06	24.67	82.67	3.50	5.9
Vitron	33.22	76.84	1.69	21.82	83.30	3.44	5.3
Waha	46.48	88.11	2.41	19.51	82.00	4.05	5.2
Ppd _{S5%}	22.30	19.73	1.70	6.00	5.65	0.43	0.18

L'étude de l'interaction indique que si le contenu en proline et celui en sucres varient d'une part, en fonction de l'intensité du choc thermique et du fond génétique expérimenté, ils varient aussi d'autre part en fonction de ces deux facteurs (Tableau 11). Ainsi de par la réponse au choc thermique, le contenu en proline départage les huit génotypes testés en trois groupes contrastés, notamment sous choc thermique de 60 minutes de durée (Figure 17). Les génotypes Korifla et

Mrb₃ présentent un contenu en proline qui augmente en fonction de l'intensité du choc thermique subi. L'indice de sensibilité au choc thermique (HSSI) de ces deux génotypes augmente de 215.0% à une valeur moyenne de 395%, respectivement pour des intensités de choc thermique de 30 et 60 minutes (Tableau 11, Figure 17).

Tableau 11. Interaction choc thermique (HS) x génotype du contenu en proline (Prol, µg/ml), du contenu en sucre (Suc, µg/ml), des dommages de la membrane cellulaire (Dom, %), de la teneur relative en eau foliaire (TRE, %), de la longueur du coléoptile (Col, cm), du contenu en chlorophylle (Chl, mg/gMF), et de la surface de la feuille (SF, cm²) des huit génotypes de blé dur testés pour leur tolérance au choc thermique de trois intensités (HS= 0, 30 et 60 min) à 40°C, au stade plantule.

HS	Génotype	Prol	Suc	Chl	Dom	TRE	Col	SF
0	Bousselam	24.8	60.6	2.4	12.5	85.0	4.4	7.7
0	Gaviota dur	34.9	53.1	2.5	11.5	82.1	4.7	5.9
0	Korifla	12.9	30.5	6.2	10.0	88.9	3.6	6.6
0	Mrb ₃	14.9	37.2	4.7	11.0	88.3	3.2	6.9
0	Ofanto	35.3	58.8	7.4	14.0	91.4	4.5	5.5
0	Tajdid	28.6	57.3	2.7	11.5	92.0	3.9	6.9
0	Vitron	20.4	47.7	2.3	9.0	92.5	3.3	5.9
0	Waha	35.8	61.2	3.7	9.5	88.9	4.5	6.2
30	Bousselam	36.6	75.6	2.2	17.5	85.3	4.3	5.6
30	Gaviota dur	56.3	64.1	1.7	20.4	82.9	4.2	5.2
30	Korifla	29.8	59.9	4.6	23.9	82.9	3.7	6.2
30	Mrb ₃	30.0	62.3	4.1	26.0	87.8	3.3	6.1
30	Ofanto	42.8	68.4	3.4	29.0	87.8	4.0	4.2
30	Tajdid	36.8	76.3	2.2	24.1	83.6	3.5	5.9
30	Vitron	29.7	86.5	1.4	27.5	86.2	3.7	5.2
30	Waha	52.1	92.4	2.0	22.2	83.1	4.2	5.1
60	Bousselam	42.5	130.2	1.7	36.6	77.4	3.5	4.7
60	Gaviota dur	57.2	92.6	1.4	35.3	78.3	3.4	4.5
60	Korifla	50.5	89.3	2.9	38.5	77.4	3.3	5.3
60	Mrb ₃	59.2	80.6	3.6	39.3	75.2	2.5	4.5
60	Ofanto	86.6	70.3	1.4	35.8	74.0	3.4	3.7
60	Tajdid	35.7	123.1	1.4	38.4	72.5	3.2	4.9
60	Vitron	49.6	96.3	1.4	28.9	71.2	3.3	4.7
60	Waha	51.5	110.8	1.6	26.8	74.0	3.5	4.2
	Ppds _{5%}	5.5	20.4	0.5	4.0	4.1	0.4	1.2

Les génotypes Ofanto et Vitron présentent un comportement similaire que celui des génotypes Korifla et Mrb₃, avec cependant une moindre accumulation de la proline sous choc thermique. En effet HSSI de ces deux variétés varie d'une

valeur moyenne de 133.0% sous choc thermique de 30 minutes à 244.0% sous choc thermique de 60 minutes, soit une réduction de la valeur du HSSI de variant de 80 à 150% (Tableau 11, Figure 17). Bousselam, Waha, Gaviota *durum* et Tajdid présentent un même degré de sensibilité vis-à-vis du choc thermique de 30 et 60 minutes de durée, avec des moyennes HSSI variant entre 128.5% et 161.1% à 30 minutes et de 124.8% à 171.2% à 60 minutes (Tableau 11 et Figure 17).

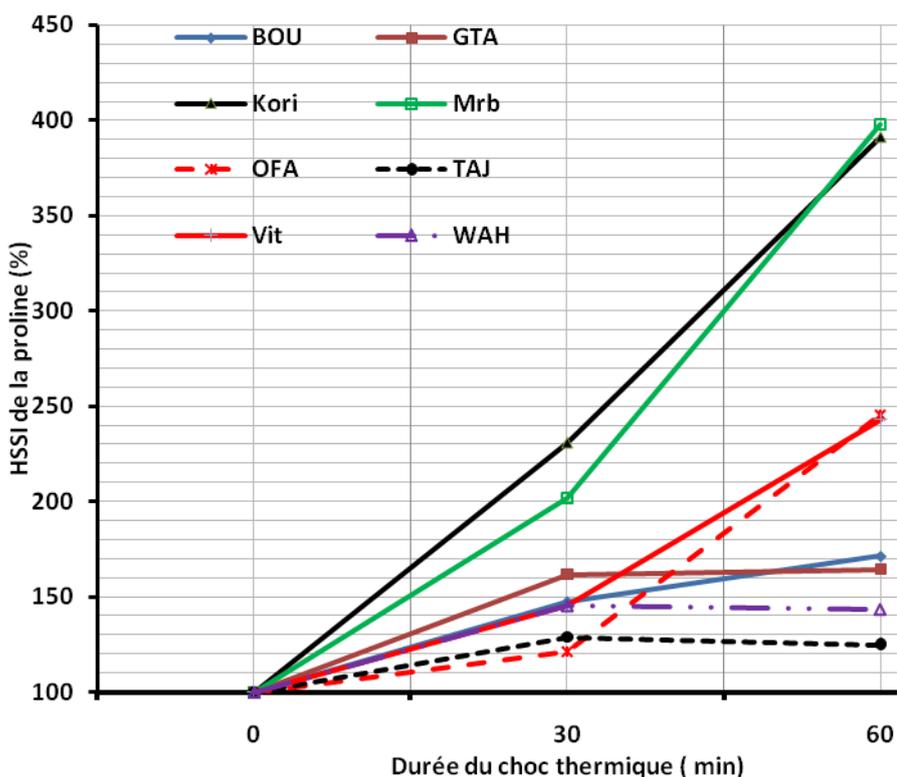


Figure 17. Variation de l'indice de sensibilité au choc thermique (HSSI, %) de la proline en fonction des génotypes et de l'intensité du choc thermique.

La réponse du contenu en proline au choc thermique discrimine nettement entre les génotypes évalués. Korifla et Mrb₃ et à un degré moindre Ofanto et Vitron accumulent de la proline proportionnellement au degré du choc thermique subi. Par contre Bousselam, Waha, Gaviota *durum* et Tajdid montrent une réponse constante pour les deux intensités de choc thermique. Ces résultats suggèrent que le choc thermique induit une accumulation de la proline et que

cette accumulation est variable selon le génotype et l'intensité du choc thermique imposé.

L'accumulation des sucres varie aussi en fonction du fond génétique et de l'intensité du choc thermique (Tableau 11, Figure 18). En absence aussi bien qu'en présence de stress, Korifla et Mrb3 présentent une capacité intrinsèque d'accumulation des sucres significativement plus faible que celle de Bousselam, Ofanto et Waha. L'accumulation des sucres change significativement, en quantité, selon le degré de stress chez Waha, Bousselam et Tajdid. Par contre chez Ofanto, l'augmentation, entre intensités de stress, n'est pas significative (Tableau 11).

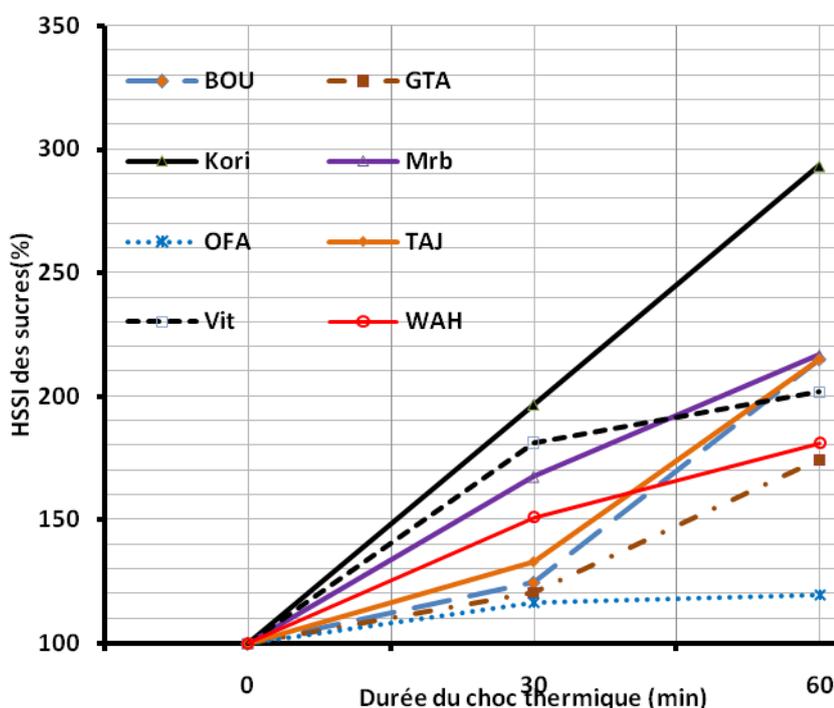


Figure 18. Variation de l'indice de sensibilité au choc thermique (HSSI, %) des sucres en fonction des génotypes et de l'intensité du choc thermique.

En valeur relative, Korifla présente l'indice HSSI le plus élevé sous choc thermique de 30 comme celui de 60 minutes. Il est suivi par Vitron, Mrb₃, Waha, sous choc thermique de 30 minutes (Figure 18). Bousselam et Tajdid montrent réagissent plus sous 60 que 30 minutes de choc thermique, alors qu'Ofanto est le

moins sensible au choc thermique en terme d'accumulation des sucres (Tableau 11, Figure 18).

L'ajustement osmotique est une forme spécifique d'accumulation des solutés qui maintiennent la turgescence et l'hydratation lors du stress avec des effets positifs sur la croissance et le développement de la plante (Morgan, 1984 ; Santamaria *et al.*, 1990). L'accumulation des solutés est mentionnée chez le blé, l'orge et le sorgho comme étant une stratégie adaptative aux conditions contraignantes (Morgan, 1984 ; Santamaria *et al.*, 1990). Morgan (1983) sélectionne des lignées de blé possédant une capacité d'ajustement osmotique élevée d'une population en ségrégation sous conditions contrôlées. Ces lignées expriment un rendement élevé sous conditions contraignantes de plein champ.

L'étude de Jones *et al.*, (1980) ainsi que celle de Munns *et al.*, (1979) indiquent que l'accumulation des solutés est une caractéristique complexe suite à la grande variété des solutés susceptibles de s'accumuler. Le choix du soluté qui discrimine entre lignées pour la tolérance des stress devient, de ce fait, difficile.

Les solutés les plus importants qui s'accumulent chez les plantes soumises aux stress sont les hydrates de carbone solubles et les acides aminés tels que la proline et la glycine- bêtaïne (Munns *et al.*, 1979 ; Yancey *et al.*, 1982 ; Cheeseman., 1988). La proline est acceptée comme un soluté organique qui s'accumule sous conditions de stress chez plusieurs espèces (Munns *et al.*, 1979 ; Yancey *et al.*, 1982 ; Cheeseman, 1988).

L'accumulation de la proline fait partie du processus d'ajustement osmotique chez les plantes qui s'adaptent progressivement à la contrainte (Hanson et Hitz., 1982). La proline sert comme une réserve non toxique d'azote et d'énergie (Joyce *et al.*, 1992). Selon Palfi *et al.*, (1973), la quantité de proline en absence de stress chez le blé est de l'ordre de 0.2 à 0.7 mg/g de MS, et augmente rapidement sous la

contrainte à des niveaux de 40 à 50 mg/ g de MS. Cependant il n'est pas encore clair est ce que l'accumulation de la proline est un phénomène inductible ou constitutif (Martin *et al.*, 1993).

Il est généralement admis que les géotypes qui se caractérisent par la capacité d'accumuler des sucres et de la proline sous contraintes hydrique et ou thermique possèdent aussi la capacité d'ajustement osmotique. Cette capacité est une caractéristique désirable pour le blé conduit en conditions de stress (Morgan., 1984). Il reste cependant à sélectionner un matériel qui présente la capacité d'ajustement associée à la réalisation d'un rendement élevé sous stress (Richards *et al.*, 2002)

4. CHLOROPHYLLE, STABILITE MEMBRANAIRE ET TENEUR RELATIVE EN EAU

L'analyse de la variance de la chlorophylle, des dommages de la membrane cellulaire et de la teneur relative en eau indique un effet choc thermique et une interaction géotype x chocs thermiques significatifs. L'effet moyen géotype n'est significatif que pour le contenu en chlorophylle et non significatif pour les dommages de la membrane cellulaire et la teneur relative en eau (Tableau 8). L'effet moyen choc thermique indique que les valeurs moyennes du contenu en chlorophylle ainsi que celles de la teneur relative en eau diminuent alors que les valeurs des dommages causés à la membrane cellulaire augmentent en fonction de l'intensité du choc thermique (Tableau 9).

Ainsi la chlorophylle diminue de 3.98 à 1.92 mg/g MF, la teneur relative de 88.64 à 74.97% et les dommages causés à la membrane cellulaire augmentent de 11.12 à 34.96%, respectivement chez le témoin et sous choc thermique de 60 minutes (Tableau 9). En valeur relative, le choc thermique (moyenne des deux intensités) induit une réduction de la chlorophylle de 40.6%, de la teneur relative

en eau de 9.8% et une augmentation des dommages de la membrane cellulaire de 164.30%(Tableau 9).

L'effet moyen génotype significatif du contenu en chlorophylle indique que les variétés Korifla, Mrb₃ et Ofanto présentent des valeurs élevées, au-dessus 4.00 mg/g MF, de chlorophylle, comparativement aux variétés Gaviota *durum* et Vitron qui présentent les plus faibles valeurs inférieures à 1.85 mg/g MF (Tableau 10). Pour la teneur relative en eau, les valeurs de l'effet moyen génotype varient de 81.08 à 84.37 pour une ppds_{5%} de 5.65% ; alors que les valeurs des dommages causés par le choc thermique à la membrane cellulaire varient de 19.51% à 26.26% pour une ppds_{5%} de 6.00% (Tableau 10).

L'étude de l'interaction de la chlorophylle indique le comportement contrasté des génotypes Ofanto, Korifla et Mrb₃ comparativement aux autres génotypes étudiés, notamment Bousselam, Waha et Tajdid. Ofanto, Korifla et Mrb₃ présentent des valeurs élevées de la chlorophylle en absence de stress, variant de 5 à 7 mg/g MF, ces valeurs baissent significativement sous choc thermique pour atteindre des moyennes au-dessous de 3 mg/g MF. Par contre Bousselam, Waha et Tajdid se distinguent par un faible contenu en chlorophylle en absence de stress, contenu qui varie peu sous stress (Tableau 11).

En termes relatifs, l'analyse de l'indice HSSI indique que l'intensité de 60 minutes de choc thermique discrimine nettement mieux entre les différents génotypes que l'intensité de 30 minutes (Figure 19). Ofanto avec un HSSI qui baisse de 45.9 à 19.1 %, respectivement sous chocs thermiques de 30 et 60 minutes, se présente comme le plus sensible en termes de variation relative du contenu en chlorophylle comparativement à Bousselam et Mrb₃ qui se montrent les moins sensibles et dont le HSSI baisse de 93.0 à 73.2 pour Bousselam et de 86.9 à 77.2 pour Mrb₃. Les autres variétés ont un comportement intermédiaire (Figure 19).

Un contenu élevé en chlorophylle est nécessaire pour l'activité photosynthétique sous stress abiotiques. Selon Kraus *et al.*, (1995); Chandrasekar *et al.*, (2000) les génotypes tolérants les stress minimisent la réduction du contenu en chlorophylle sous stress. Dans la présente étude le choc thermique induit une réduction du contenu en chlorophylle, variable selon les génotypes étudiés et l'intensité du choc thermique.

Sur la base de l'indice HSSI de la chlorophylle, les génotypes qui minimisent la baisse du contenu en chlorophylle sous stress et qui, de se fait, sont classés comme tolérants, sont Bousselam et Mrb₃ ; alors que ceux qui ont un HSSI élevé et sont considérés donc comme sensibles sont Ofanto et à un degré moindre Waha (Figure 19).

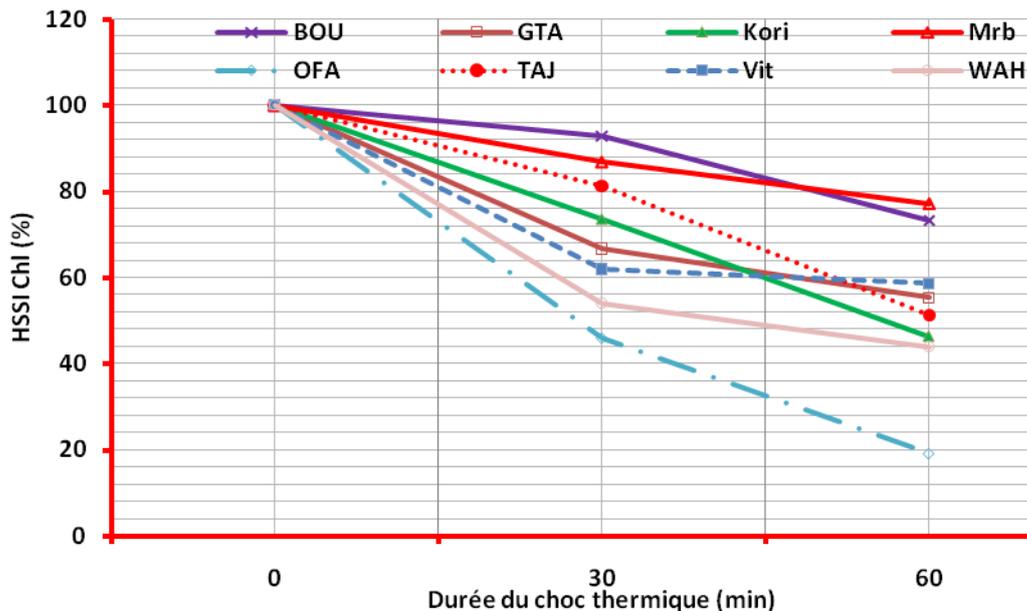


Figure 19. Variation de l'indice de sensibilité au choc thermique (HSSI, %) de la chlorophylle en fonction des génotypes et de l'intensité du choc thermique.

L'étude de l'interaction de la teneur relative en eau indique des comportements diversifiés. Ainsi Bousselam, Gaviota durum, Mrb₃ et Ofanto ont une teneur relative en eau qui varie peu sous choc thermique de 30 minutes comparativement aux valeurs observées en absence de stress (Tableau 11). Ainsi à titre d'exemple la teneur relative de Bousselam change de 85.0 à 85.3% en absence

et sous choc thermique de 30 minutes, pour une ppds 5% de 4.1%. Les valeurs pour ces mêmes traitements sont de 82.1 et 82.9% pour Gaviota durum et de 88.3 et 87.8% pour Mrb3.

Ces résultats suggèrent que le choc thermique de 30 minutes ne discrimine pas entre ces variétés qui se montrent peu sensibles à ce seuil de sévérité du stress. Par contre des génotypes tels que Tajdid, Vitron et Waha se montrent sensibles à ce seuil de stress. Les moyennes de la teneur relative en eau de ces génotypes changent de 92.0 à 83.6%, de 92.5 à 86.2% et de 88.9 à 83.1% respectivement pour les deux traitements de stress et pour les trois génotypes dans l'ordre cité ci-dessus (Tableau 11).

L'analyse de l'indice HSSI de cette variable indique que l'intensité de 60 minutes de choc thermique discrimine nettement mieux entre les différents génotypes que l'intensité de 30 minutes (Figure 20). Bousselam et Gaviota durum minimisent la variation de la teneur relative en eau sous stress sévère comparativement à Vitron, Tajdid et Ofanto qui présentent de larges différences de teneur relative en eau entre le témoin et le choc thermique de 60 minutes (Figure 20).

Une forte réduction de la teneur relative en eau sous stress est interprétée comme un signe de sensibilité génotypique. De ce fait et pour cette caractéristique, les génotypes Bousselam et Gaviota durum, avec un indice HSSI de 91.0 et 95.0% sont tolérants alors que les génotypes Ofanto, Tajdid et Vitron, avec des valeurs de l'indice HSSI de 80.9, 78.8 et 76.9% sont sensibles à la contrainte thermique (Figure 20, Tableau 11).

L'étude de l'interaction des dommages causés par le choc thermique à la membrane cellulaire indique que le stress de 60 minutes amplifie les différences entre génotypes mieux que celui de 30 minutes. Quoique la réponse au choc

thermique des différents géotypes soit globalement linéaire, deux groupes de réponses apparaissent, avec Waha, Vitron et Ofanto qui montrent le même degré de sensibilité au choc thermique de 30 et de 60 minutes ; alors que les autres géotypes montrent une plus grande sensibilité à 60 minutes qu'à 30 minutes de choc thermique.

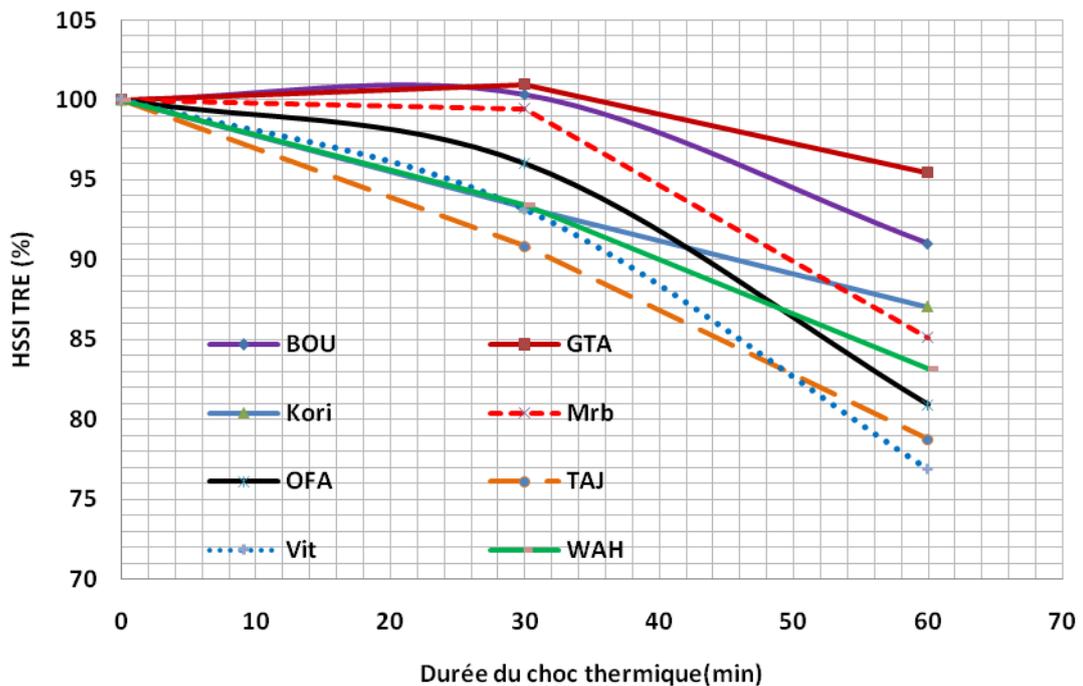


Figure 20. Variation de l'indice de sensibilité au choc thermique (HSSI, %) de la teneur relative en eau en fonction des géotypes et de l'intensité du choc thermique.

Ainsi sous stress modéré de 30 minutes de durée, les dommages causés par le choc thermique à la membrane cellulaire augmentent de 12.7, 18.5 et 15.0% respectivement chez Waha, Vitron et Ofanto. Les moyennes de dommages augmentent de 4.6, 1.4 et 6.9% sous stress de 60 minutes comparativement aux valeurs mesurées sous stress de 30 minutes, chez les mêmes variétés (Tableau 11).

Par contre les dommages causés par le choc thermique à la membrane cellulaire augmentent de 5.0 et 8.9%, respectivement chez Bousselam et Gaviota durum, pour un ppds₅ de 4.0%. Les moyennes de dommages augmentent de 19.1

et 14.8% sous stress de 60 minutes comparativement aux valeurs mesurées sous stress de 30 minutes, chez les mêmes variétés (Tableau 11).

L'analyse de l'indice HSSI de cette variable indique que sous stress de 30 minutes Vitron est le plus sensible avec une valeur de 305.9% et Bousselam le moins sensible avec une valeur 140.0%, par contre sous stress de 60 minutes, le classement est plus diffus et où Korifla se classe parmi les plus sensibles, avec une valeur d'indice de 385.0% et Ofanto le moins endommagé par le choc thermique, avec une valeur d'indice de 256.3% (Figure 21).

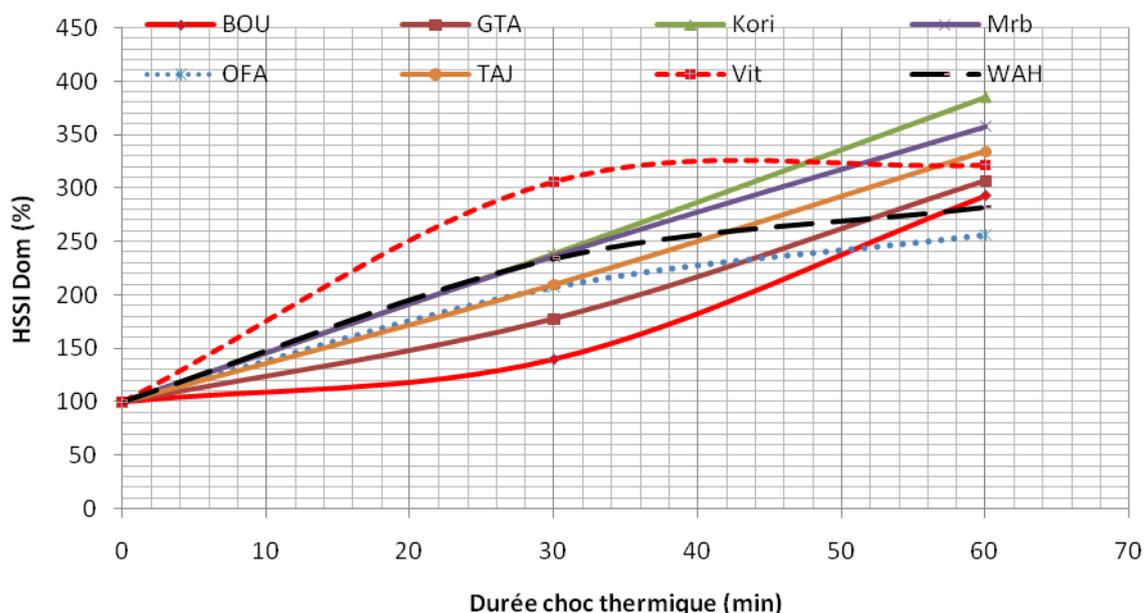


Figure 21. Variation de l'indice de sensibilité au choc thermique (HSSI, %) des dommages cellulaires en fonction des géotypes et de l'intensité du choc thermique.

La résistance au stress thermique est étroitement liée à l'alimentation de la plante en eau. La capacité de rétention de l'eau par le feuillage est suggérée pour évaluer la résistance des plantes vis-à-vis des stress thermique et hydrique de tout germoplasme destiné aux zones sèches (Ritchie et Henry., 1990 ; Yang *et al.*, 2001). C'est un bon indicateur de la résistance génotypique aux stress abiotiques selon Clark et Mc Craig., (1982).

La teneur relative en eau est le rapport entre la quantité d'eau présente dans le tissu foliaire au moment de l'échantillonnage sur la quantité d'eau du même échantillon à l'état turgide. Cette caractéristique est considérée comme un trait reproductible indicateur du statut hydrique de la plante (Shukla *et al.*, 2006).

Des résultats de plusieurs études suggèrent que les génotypes tolérants maintiennent une teneur relative en eau, mesurées sous conditions de stress, plus élevée que les génotypes sensibles (Shukla *et al.*, 2006). Ainsi Clarke *et al.*, (1989) rapportent qu'une faible perte d'eau foliaire est une caractéristique discriminante entre les génotypes tolérants et ceux qui sont sensibles aux stress et qu'elle est liée au rendement obtenu sous conditions de stress.

La membrane plasmique constitue la barrière entre le cytoplasme et l'environnement extérieur à la cellule. Elle représente les moyens par lesquels le contrôle des processus d'absorption sont assurés (Ristic *et al.*, 2007). Ceci explique les tentatives faites pour expliquer les différences de comportement entre les génotypes tolérants et ceux qui sont sensibles par des différences des caractéristiques de la membrane plasmique.

Les dommages causés à la membrane cellulaire par le stress induisent une rupture entre les lipides et les protéines membranaires et l'activité enzymatique (Salisbury et Ross., 1991). La membrane perd alors son intégrité en devenant perméable, se plasmolyse et libère, vers l'espace extracellulaire, son contenu (Shang *et al.*, 1993 ; Ristic *et al.*, 2007).

Des dommages sévères observés chez des variétés de thé soumises au stress ont été attribués à l'augmentation de la désorganisation et la perméabilité de la membrane cellulaire, en réponse au déficit hydrique (Quartacci et Navari-Izzo., 1992). C'est dans ce contexte que la présente étude se fixe comme objectif de

déterminer si l'intégrité de la membrane plasmique peut différencier entre les génotypes de blé dur en matière de tolérance des stress.

Le test de l'intégrité de la membrane cellulaire est basé sur la quantification de l'électrolyte qui est perdu par les disques du tissu foliaire échantillonné, après imposition du stress thermique. La quantité d'électrolyte perdue, par la cellule, est une mesure du degré de tolérance des hautes températures (Fokar *et al.*, 1998; Ibrahim et Quick, 2001; Pask *et al.*, 2012).

Fokar *et al.*, (1998) mentionnent que l'intégrité cellulaire est une technique de sélection efficace vis-à-vis du stress thermique et dont la lecture est corrélée au rendement sous stress thermique. Ainsi une corrélation significative entre les valeurs de l'intégrité cellulaire et la baisse du rendement est rapportée par Reynolds *et al.*, (1994) pour le blé tendre.

Des corrélations significatives entre les valeurs de dommages cellulaires et le poids des épis, le rendement grain et l'indice de récolte, sont rapportées par Bouzerzour *et al.*, (1998). Cependant des cas d'absence de liaison entre les valeurs de l'intégrité cellulaire et le rendement du blé tendre est mentionnée par Saadalla *et al.*, (1990) et chez le sorgho par Sullivan et Ros (1979). Ceci suggère que la tolérance n'est pas toujours liée aux performances de rendement.

Acevedo (1991) mentionne que la stabilité du contenu en chlorophylle est recommandée comme une caractéristique utilisable en sélection de la tolérance des stress thermique. Reynolds *et al.*, (1994) rapportent une corrélation significative entre le contenu en chlorophylle de la feuille étendard et le rendement grain sous stress thermique. Ristic *et al.*, (2007) recommande l'utilisation du chlorophylle mètre pour faciliter le criblage pour cette caractéristique.

Selon Fokar *et al.*, (1998), la baisse du contenu en chlorophylle est plus importante chez les génotypes sensibles au stress thermique. Alors que Camejo *et*

al., (2005), Wahid et Ghazanfar (2006) notent une augmentation du ratio Chla/Chlb et une diminution du ratio Chl/caroténoïdes chez les géotypes tolérant le stress thermique. La perte des pigments photosynthétiques est utilisée comme indicateur de la capacité de tolérance chez les céréales (Moustakas *et al.*, 1993). Le contenu en chlorophylle diminue plus chez des plantules de blé soumises au stress hydrique comparativement à celles non stressées (Watanabe *et al.*, 1994).

5. COLEOPTILE ET SURFACE DE LA FEUILLE

L'analyse de la variance de la longueur du coléoptile et de la surface de la feuille indique des effets choc thermique et géotype et une interaction géotype x chocs thermiques significatifs (Tableau 8). Les effets moyens significatifs indiquent que la longueur du coléoptile et de la surface de la feuille sont significativement affectées par le choc thermique et que les géotypes présentent des aptitudes intrinsèques différentes pour ces caractéristiques.

Ainsi sous l'effet du choc thermique, la longueur du coléoptile diminue de 3.99 à 3.25 cm, respectivement en absence et sous choc thermique de 60 minutes ; alors que la surface de la feuille la plus développée est réduite de 6.44 cm² à 4.58 cm² pour les mêmes traitements. Les valeurs prises par la ppds 5 % sont de 0.21 et 0.6 pour les deux variables mesurées (Tableau 9).

Ces réductions, exprimées en valeurs relatives, dues à l'effet du choc thermique, sont indiquées en figure 22. L'analyse de l'effet moyen géotype indique que Bousselam se distingue par des valeurs moyennes les plus élevées de la longueur du coléoptile de 4.03 cm et de la surface foliaire de 6.0 cm². Ces valeurs correspondent à 135.2% et 133.3% des valeurs moyennes minimales observées chez Mrb₃ pour la longueur du coléoptile (2.98 cm) et chez Ofanto (4.5 cm²) pour la surface foliaire (Tableau 10, Figure 23).

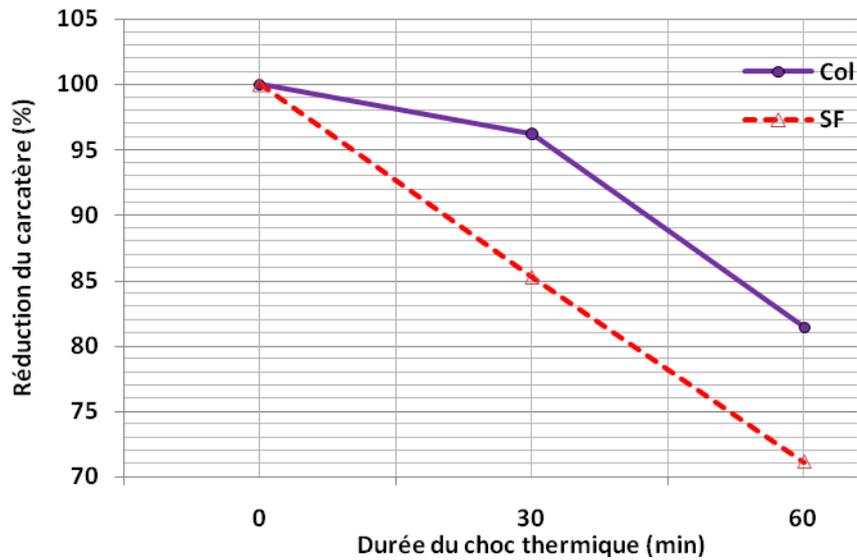


Figure 22. Effet moyen du choc thermique sur la longueur du coléoptile et de la surface de la feuille la plus développée (effet moyen, exprimé en % de la valeur du témoin).

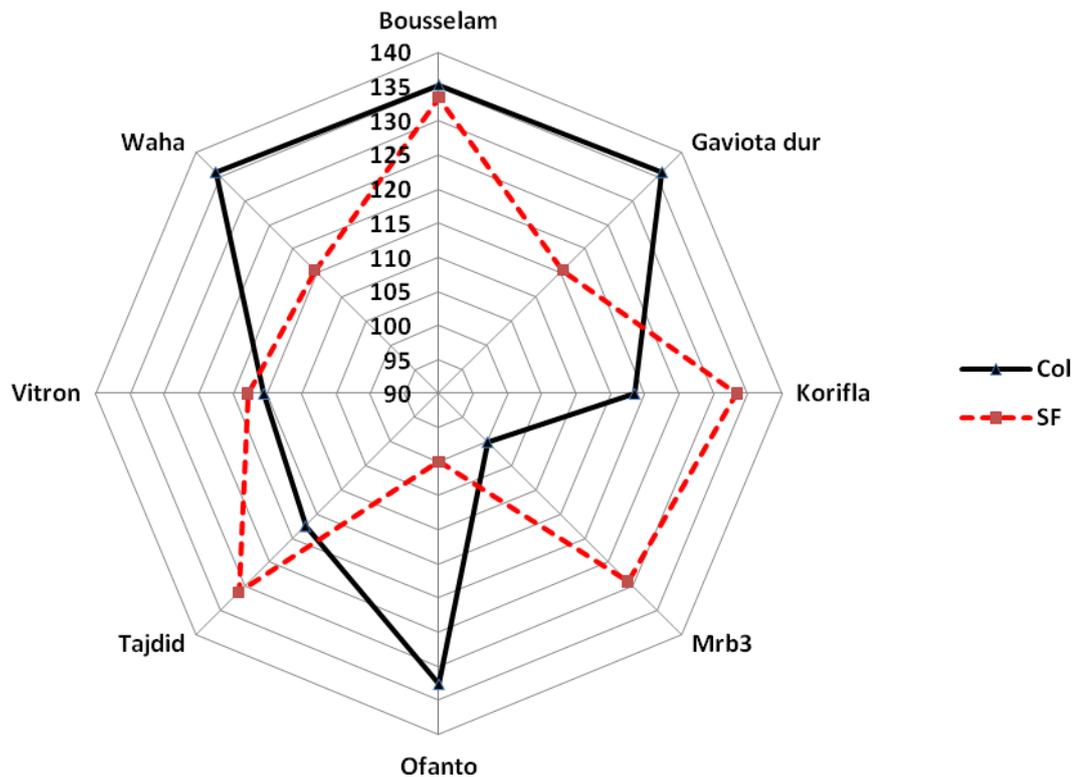


Figure 23. Variation des valeurs moyennes du coléoptile et de la surface de la feuille la plus développée en fonction des génotypes (effet moyen génotype, exprimé en % de la valeur minimale, moyenne des traitements du choc thermique).

Boussalem, Ofanto, Waha et Gaviota *durum* se caractérisent par une coléoptile longue alors que c'est l'inverse pour Mrb₃, Vitron et Tajdid. A l'inverse Waha, Gaviota *durum* et Ofanto présentent une surface foliaire relativement plus

réduite comparativement à celle notée chez Bousselam, Tajdid et Korifla (Figure 23).

L'étude de l'interaction génotype x chocs thermiques de la longueur du coléoptile indique des comportements très contrastés des différents génotypes étudiés. Ainsi Vitron, Korifla, Mrb₃ et Bousselam se montrent peu sensibles au stress d'intensité modéré et présentent une faible réduction de la croissance de la coléoptile comparativement au comportement du témoin.

Par contre, pour le même traitement, les génotypes Ofanto, Tajdid, Gaviota durum et Waha sont significativement affectés. Sous stress sévère les derniers génotypes cités sont plus sensibles et sont rejoint par Bousselam et Mrb₃, alors que Gaviota durum et Korifla sont relativement moins sensibles comparativement au reste des génotypes étudiés. Les valeurs de l'indice de sensibilité à la contrainte varient de 88.9 à 112.1 sous stress modéré et de 72.4 à 101.0 sous stress sévère (Figure 24).

L'analyse de l'interaction de la surface foliaire de la feuille la plus développée indique des comportements très variés selon l'intensité du choc thermique et du génotype. Ainsi les génotypes aux comportements très contrastés sont Korifla qui présente un faible indice de sensibilité quelque soit l'intensité du choc thermique testé et Bousselam qui, à l'inverse, est très affecté sous stress modéré et sévère (Figure 25).

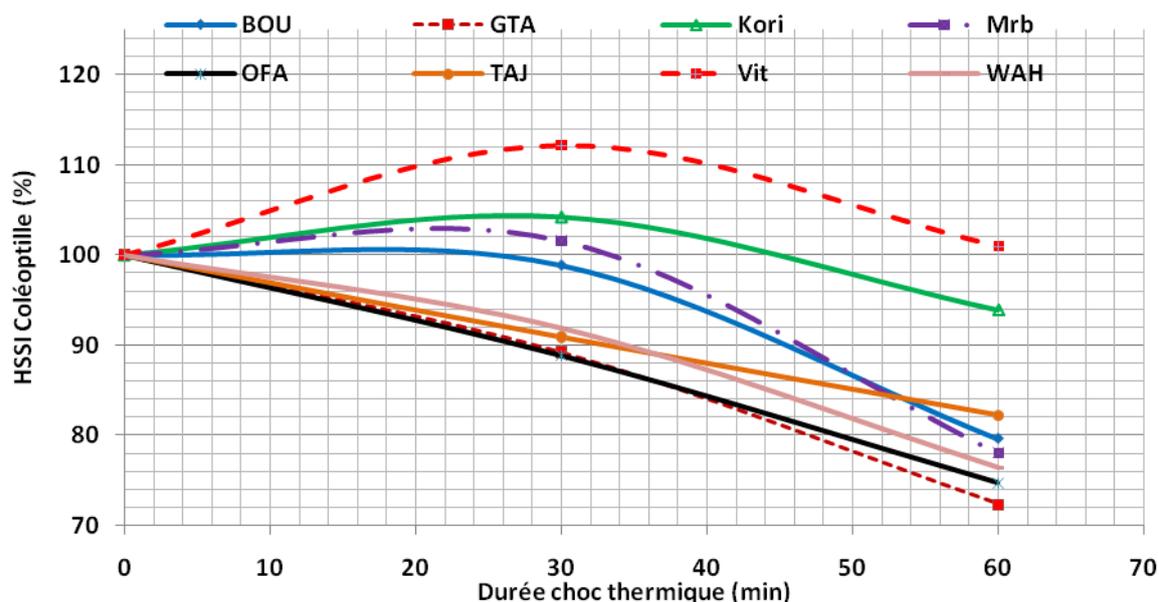


Figure 24. Variation de l'indice de sensibilité au choc thermique (HSSI, %) de la longueur du coléoptile en fonction des génotypes et de l'intensité du choc thermique.

Ofanto présente un comportement proche de celui adopté par Bousselam, alors que Vitron a un comportement similaire à celui de Korifla. Tajdid présente une sensibilité intermédiaire entre ces deux extrêmes. Mrb₃ se classe avec les génotypes les plus tolérants sous choc thermique modéré et avec ceux qui sont les plus sensibles sous choc d'intensité de 60 minutes, suggérant que la tolérance des stress est parfois fonction de l'intensité du stress chez certains fonds génétiques (Figure 25).

Généralement le blé dur est considéré comme une espèce assez résistante aux stress abiotique comparativement au blé tendre, ce qui explique la localisation de sa culture en zones méditerranéennes où il occupe plus de 75% de la sole réservée à cette espèce au niveau mondial (Annicchiarico and Mariani., 1996).

Cependant le développement de variétés tolérantes a été, et est restera probablement un des objectifs majeurs de la sélection de cette espèce (Blum., 1985; Clarke *et al.*, 1994). Tout progrès dans ce domaine est difficile à obtenir suite à la complexité de mesure des caractères qui paraissent conditionner la tolérance des stress et de leurs liaisons avec les autres caractères non ciblés.

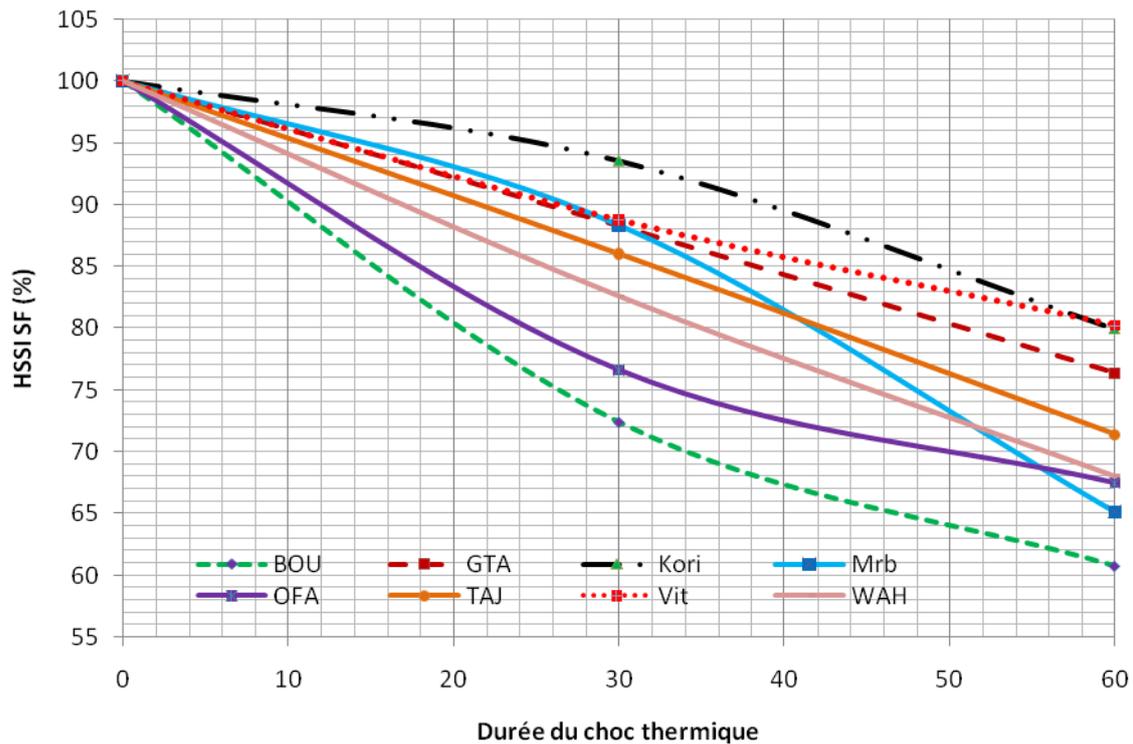


Figure 25. Variation de l'indice de sensibilité au choc thermique (HSSI, %) de la surface foliaire de la feuille la plus développée en fonction des génotypes et de l'intensité du choc thermique.

Selon Dedio (1975) ainsi que Richards *et al.*, (2002), le développement de variétés tolérant les stress est lent parce que dans la plupart des cas la sélection est faite en plein champ où s'exprime, en interaction, une multitude de stress et pas uniquement le stress thermique ou hydrique faisant l'objet d'étude. Cette multitude de stress rend difficile le choix d'un protocole adéquat pour le criblage de la tolérance.

Ceci amène Bailanos et Edmeades (1988) à suggérer d'utiliser la réponse globale de la plante comme critère de sélection et non l'utilisation d'un seul caractère. Cependant il est toujours intéressant d'identifier les caractères qui semblent conditionner la tolérance des stress, pour mieux approcher la sélection pour cette caractéristique (Blum et Ebercon., 1981).

Ces caractères pour être utile en sélection doivent remplir certaines conditions dont entre autre la présence de la variabilité génétique pour que la

sélection puisse avoir une réelle emprise. Ils doivent avoir une héritabilité assez élevée pour que le phénotype mesuré représente bien l'expression du génotype et non l'effet masqué de l'environnement.

Ces caractères doivent avoir des liaisons significatives avec le rendement qui reste l'objectif final de la sélection. Les caractères considérés doivent être facilement mesurables, avec une précision acceptable et de faibles coûts économiques. Le nombre de ces caractères est, selon Ludlow et Muchow (1990) sans cesse croissant.

Ceci fait dire à Ceccarelli *et al.*, (1991) que l'amélioration du rendement sous conditions de contrainte hydrique et/ou thermique peut être réalisée par criblage sur la base d'une combinaison de caractères qui soient liés à la tolérance du stress ciblé. Cependant peu de variétés tolérantes issues d'un tel processus de sélection ont vu le jour (Richards *et al.*, 2007).

6. LIAISONS ENTRE CARACTERES MESURES AU STADE PLANTULE ET LES INDICES DE TOLERANCE DU RENDEMENT GRAINS

L'étude des liaisons entre les différentes variables est utile pour identifier celles qui sont génétiquement liées de celles dont le contrôle génétique est indépendant. Elles aident le sélectionneur ainsi que le physiologiste à réduire du nombre de variables à mesurer parmi celles qui sont fortement liées de celles qui présentent des mécanismes physiologiques différents. Les performances de rendement et les valeurs des indices de tolérance des différents génotypes évalués sont donnés au tableau 12.

Tableau 12. Performances de rendement en grains et valeurs des indices de tolérance des stress des géotypes évalués

Géotype	Rendement en grains (t/ha) / localité						Indices		
	SET	KH	HAR	SBA	SAI	Moyenne	P	STI	S
Bousselam	4.37	5.01	1.47	2.71	3.68	3.45	0.06	0.316	0.97
Gaviota <i>durum</i>	3.55	4.26	1.33	2.29	4.10	3.10	0.34	0.243	0.94
Korifla	3.97	5.13	1.23	2.31	3.33	3.19	0.17	0.271	1.04
Mrb ₃	4.61	4.98	1.32	2.97	3.78	3.53	0.05	0.281	1.01
Ofanto	2.84	4.15	1.37	2.06	3.42	2.77	0.65	0.244	0.92
Tajdid	3.69	5.59	1.05	2.50	2.96	3.15	0.25	0.252	1.11
Vitron	3.22	4.53	1.37	1.95	4.16	3.05	0.41	0.266	0.95
Waha	3.82	5.04	1.25	2.78	3.76	3.33	0.11	0.270	1.03

Localités: SET= Setif, KH= Khroub, HAR= Harrouch, SBA= Sidi Bel Abbès, SAI= Saïda.

Les coefficients de corrélations de rangs calculés par intensité de choc thermique (témoin, 30 et 60 minutes de durée du choc thermique) montrent que les variables mesurées sont dans l'ensemble peu corrélées entre elles, donc elles sont probablement générées par des processus génétiques indépendants (Tableaux 13, 14 et 15). Ainsi, en absence de stress, seules la proline et la surface de la feuille la plus développée, montrent des relations significatives avec les sucres solubles et la croissance de la coléoptile, pour la proline et avec le ratio FV/Fm et l'indice P pour la surface foliaire (Tableau 13).

Tableau 13. Coefficients de corrélations de rangs entre les valeurs des variables mesurées en absence du choc thermique, au stade plantule et les indices de de tolérance (Au-dessous de la diagonale, coefficients de corrélations, au-dessus probabilités de signification).

	PRO	SUC	IC	TRE	COL	CHL	SF	FV/FM	P _i	S	STI
PRO		0.011	0.471	0.989	0.017	0.935	0.280	0.623	0.389	0.462	0.462
SUC	0.833		0.400	0.901	0.091	0.703	1.000	0.920	1.000	0.703	0.703
IC	0.299	0.347		0.428	0.255	0.549	0.865	0.084	0.761	0.381	0.381
TRE	-0.012	-0.060	-0.325		0.365	0.964	0.477	0.264	0.198	0.676	0.676
COL	0.826	0.647	0.458	-0.367		0.945	0.306	0.912	0.400	0.333	0.333
CHL	0.048	-0.143	0.252	0.024	0.036		0.654	0.757	1.000	0.840	0.840
SF	-0.434	0.000	0.073	-0.291	-0.412	-0.193		0.050	0.015	0.090	0.090
FV/FM	-0.205	0.048	0.655	-0.448	-0.048	-0.133	0.726		0.284	0.669	0.669
P _i	0.333	0.000	0.132	0.515	0.347	0.000	-0.831	-0.434		0.197	0.197
S	-0.310	-0.143	-0.359	0.180	-0.395	0.095	0.651	0.181	-0.524		0.000
STI	0.310	0.143	0.359	-0.180	0.395	-0.095	-0.651	-0.181	0.524	-1.000	

Proc = proline, µg/ml; Suc = Sucres totaux, µg/ml ; Dom= Dommages cellulaires, % ; TRE= teneur relative en eau, % ; Col= coléoptile, cm ; Chl= Chlorophylle, mg/g MF; SF= surface de la feuille, cm² ; Fv/Fm = rendement quantique ; P_i= indice de Lin et Binns(1988), S = indice de Fisher et Maurer (1978) ; STI = indice de Fernandez (1992).

Ces corrélations suggèrent que les génotypes qui accumulent plus de proline, le font aussi pour les sucres solubles et se distinguent, en plus, par une vitesse d'élongation de la coléoptile plus importante. Elles suggèrent aussi que les génotypes qui développent des feuilles aux larges dimensions se caractérisent par un rendement quantique élevé et un faible indice P (Tableau 12).

Sous stress de 30 minutes de durée, comme sous celui de 60 minutes, les corrélations, observées en absence de stress, ne sont plus significatives (Tableaux 14 et 15). Par contre, et sous stress de 30 minutes de durée, les sucres solubles sont négativement corrélés avec le contenu en chlorophylle ; alors que le ratio Fv/Fm l'est avec les indices de tolérance des stress (Tableau 14).

Ces résultats suggèrent que les sucres solubles s'accumulent plus chez les génotypes qui se distinguent par un faible contenu en chlorophylle. Le rendement quantique est élevé chez les génotypes qui présentent de faibles indices P et STI et un indice S supérieur à l'unité. Un faible indice P est indicateur d'un rendement au-dessus de la moyenne et d'une faible variation du rendement grain ou stabilité élevée (Benmahammed *et al.*, 2010). Ali-Dib *et al.*, (1994) rapportent une corrélation significative et négative entre l'indice S et la proline.

Tableau 14. Coefficients de corrélations de rangs entre les valeurs des variables mesurées sous choc thermique de 30 minutes de durée à 40°C, au stade plantule et les indices de tolérance (Au-dessous de la diagonale, coefficients de corrélations, au-dessus probabilités de signification).

	PRO	SUC	IC	TRE	COL	CHL	SF	FV/FM	P _i	S	STI
PRO		0.665	0.389	0.464	0.204	0.536	0.154	0.783	0.703	0.536	0.536
SUC	0.167		1.000	0.830	0.502	0.048	0.143	0.783	0.665	0.935	0.935
IC	-0.357	0.000		0.078	0.087	0.752	0.673	0.871	0.216	0.582	0.582
TRE	-0.301	0.096	0.675		0.420	0.712	0.605	1.000	0.936	0.360	0.360
COL	0.506	0.277	-0.651	-0.329		0.448	0.178	0.440	0.924	0.318	0.318
CHL	-0.262	-0.714	0.119	0.157	-0.313		0.177	0.329	0.327	0.462	0.462
SF	-0.563	-0.575	-0.180	-0.212	-0.533	0.539		0.383	0.154	0.084	0.084
FV/FM	-0.120	0.120	-0.072	0.000	-0.317	0.398	0.358		0.050	0.036	0.036
P _i	0.143	0.167	0.500	0.036	0.048	-0.405	-0.563	-0.723		0.197	0.197
S	-0.238	0.048	-0.214	-0.374	-0.410	0.286	0.659	0.759	-0.524		0.000
STI	0.238	-0.048	0.214	0.374	0.410	-0.286	-0.659	-0.759	0.524	-1.000	

La photosynthèse est moins affectée par le choc thermique chez les génotypes qui se caractérisent par un indice P de faible valeur. Dans ce cas le ratio Fv/Fm est indicateur de la performance et de la stabilité du rendement grain sous stress. La relation avec S suggère plutôt que les génotypes dont la photosynthèse est peu affectée par le choc thermique ne sont pas performants sous stress mais le sont en absence de stress. Clarke *et al.*, (1992) mentionnent que les génotypes ayant des valeurs S inférieures à l'unité sont tolérants au stress.

Sous stress de 60 minutes de durée, seule la corrélation entre l'indice P et le ratio Fv/Fm est maintenu, avec en plus une corrélation entre la proline et la surface de la feuille et entre le contenu en chlorophylle et l'indice P (Tableau 15). Ces résultats indiquent que parmi les tests de laboratoire réalisés, seul le rendement quantique présente une liaison significative avec l'indice P aussi bien sous stress de 30 que sous celui de 60 minutes.

Tableau 15. Coefficients de corrélations de rangs entre les valeurs des variables mesurées sous choc thermique de 60 minutes de durée à 40°C, au stade plantule et les indices de tolérance (Au-dessous de la diagonale, coefficients de corrélations, au-dessus probabilités de signification).

	PRO	SUC	IC	TRE	COL	CHL	SF	FV/FM	P _i	S	STI
PRO		0.007	0.977	0.541	0.966	0.815	0.032	0.665	0.703	0.132	0.132
SUC	-0.857		0.536	0.783	0.394	0.786	0.330	0.536	0.462	0.327	0.327
IC	-0.024	-0.262		0.502	0.087	0.137	0.259	0.977	0.243	0.327	0.327
TRE	0.253	-0.120	0.277		0.495	0.309	0.946	0.469	0.389	0.736	0.736
COL	0.024	0.352	-0.655	0.282		0.721	0.328	0.465	0.912	0.394	0.394
CHL	0.101	-0.114	0.596	0.417	-0.149		0.646	0.315	0.017	0.315	0.315
SF	-0.771	0.398	0.458	0.030	-0.399	0.193		0.273	0.692	0.105	0.105
FV/FM	0.190	0.238	-0.024	0.301	0.303	0.419	-0.446		0.048	0.665	0.665
P _i	0.143	-0.286	-0.452	-0.349	0.048	-0.862	-0.169	-0.714		0.197	0.197
S	-0.571	0.405	0.405	-0.145	-0.352	0.406	0.627	0.167	-0.524		0.000
STI	0.571	-0.405	-0.405	0.145	0.352	-0.406	-0.627	-0.167	0.524	-1.000	

Proc = proline, µg/ml; Suc = Sucres totaux, µg/ml ; Dom= Dommages cellulaires, % ; TRE= teneur relative en eau,% ; Col= coléoptile, cm ; Chl= Chlorophylle, mg/g MF; SF= surface de la feuille, cm² ; Fv/Fm = rendement quantique ; P_i= indice de Lin et Binns(1988), S = indice de Fisher et Maurer (1978) ; STI = indice de Fernandez (1992).

Le rendement quantique apparait, dans ce cas, comme un test apte à prédire le comportement des génotypes à haut rendement et stables (tolérants) et ceux qui sont sensibles à la variation environnementale. De ce fait, ce test peut servir

comme critère de criblage précoce pour identifier le germoplasme tolérant de celui qui est sensible aux stress hydriques et thermiques.

Selon Kadi *et al.*, (2010), les faibles valeurs de l'indice P sont désirables en sélection, parce qu'elles indiquent une performance de rendement au-dessus de la moyenne associée à une stabilité spatiotemporelle. Les résultats de la présente étude indiquent que les génotypes qui minimisent la réduction du ratio Fv/Fm se montrent tolérants aux stress de plein champ mesuré par l'indice P de Lin et Binns (1988) basé sur le rendement grain.

Rose *et al.*, (2008) mentionnent que les faibles valeurs de P sont les plus désirables en sélection parce qu'elles sont la caractéristique des génotypes performants et stables. Benmahammed *et al.*, (2010) notent que la différence de rendements entre lignées caractérisées par de valeurs faibles et élevées de l'indice S divergent fortement pour le rendement grain, rendant l'utilisation de cet indice difficile en sélection pour concilier performance et stabilité.

L'amélioration de la résistance aux stress abiotiques est compliquée par l'absence de techniques de screening fiables et rapides, utilisables tôt au cours du cycle de développement pour cribler de larges populations en ségrégations, conduites sous conditions de contraintes. Dans ce contexte les indices de tolérances basés sur la réduction du rendement sous stress comparativement au rendement obtenu en conditions favorable sont très utilisés pour le screening à un stade végétatif tardif. La recherche de tests de laboratoire qui peuvent identifier très tôt les génotypes tolérants est plus qu'intéressante.

Les résultats de la présente étude suggèrent que le contenu en chlorophylle, la surface de la feuille et le rendement quantique, déterminés au stade plantule, sont liés aux indices de tolérance. Ces traits méritent d'autres investigations pour

confirmer leur utilité comme discriminants entre les géotypes tolérants et ceux qui sont sensibles au stress, à un stade végétatif précoce.

Ces résultats indiquent aussi que certains caractères comme l'accumulation des solutés et la stabilité membranaire, mesurés à un stade précoce, ne semble pas avoir de liaisons avec la tolérance exprimée à un stade tardif sous forme de minimisation de la baisse du rendement sous stress. De ce fait ces caractères ne peuvent se substituer aux indices de tolérance et au rendement grain mesuré sous stress et en conditions favorables comme critères de sélection pour la tolérance et la stabilité. Parmi ces caractères seul le ratio F_v/F_m semble répondre à cet objectif. Si des études futures confirment cette information ce ratio peut être utilisé pour le criblage précoce des géniteurs tolérants au choc thermique et qui minimisent la baisse de rendement sous stress thermique et hydrique.

CHAPITRE III

**DETERMINISME GENETIQUE DE LA SURFACE, DES PERTES D'EAU, DE LA TENEUR
RELATIVE EN EAU FOLIAIRES ET DE LA STABILITE DE LA MEMBRANE PLASMIQUE**

Summary

The present investigation was undertaken to study the inheritance pattern of morpho-physiological traits: relative water content, excised leaf water loss, flag leaf area and membrane stability, in a F₃-population of durum wheat (*Triticum durum* Desf.). The results reflected a satisfactory range of variability in the evaluated traits. Range magnitude of the four traits represented the equivalent of 5.0 to 11.4 times the least significant difference at 5% level. Transgressors, with variable frequencies, were observed for all the measured traits. In fact 25% of the F₃ lines showed a relative water content greater than 85%, 3% has a flag leaf area superior to 26 cm², 8% has a low leaf water loss rate and 11% expressed a low electrolyte leakage rate, suggesting a high membrane stability. Medium to high broad sense heritability estimates were noted for the measured traits. Medium to high genetic gain expressed as percent of the base population mean was observed, taking the following values: 11.0%, 24.0%, 68% and 88%, for relative water content, flag leaf area, excised leaf water loss rate, and percent of cell injury, respectively. Altogether, the obtained results indicated that the studied cross population would be of interest in the breeding program and an effective progress can be made through selection of these morpho-physiological characters to enhance stress tolerance and grain yield potential.

Key words: *Triticum durum*, leakage, RWC, LWL, heritability, genetic gain, heritability.

Résumé

La présente recherche a été conduite pour étudier l'hérédité des caractères morpho-physiologiques: la teneur relative en eau, la perte d'eau des feuilles excisées, la surface de la feuille étandard et la stabilité membranaire, d'une population F3 de blé dur (*Triticum durum* Desf.). Les résultats montrent la présence d'une variabilité satisfaisante pour les caractères évalués. L'amplitude des quatre caractères représente l'équivalent de 5.0 à 11.4 fois la plus petite différence significative au seuil de 5%. Les transgresseurs avec des fréquences variables sont observés pour les variables mesurées. En effet 25% des lignées de la population F3 présentent une teneur relative en eau plus élevée que 85%, 3% ont une surface de la feuille étandard supérieure à 26 cm², 8% présentent une faible perte d'eau des feuilles excisées et 11% présente un faible % des dommages à la membrane plasmique, suggérant une stabilité membranaire élevée. Des héritabilités au sens large de valeurs moyennes à élevées sont notées pour les caractères mesurés. Les valeurs du gain génétique, exprimées en % de la moyenne du caractère, sont moyennes à élevées, prenant les valeurs suivantes : 11.0%, 24.0%, 68% et 88%, respectivement pour la teneur relative en eau, la surface de la feuille étandard, les pertes d'eau des feuilles excisées et du % de dommages à la membrane plasmique. Dans l'ensemble, les résultats obtenus indiquent que la population étudiée est d'un important intérêt pour le programme d'amélioration et qu'un progrès substantiel peut être réalisé suite à la sélection sur la base des caractères morpho-physiologique analysés pour améliorer la tolérance vis-à-vis des stress et la performance de rendement.

Mots clés: *Triticum durum*, diffusion, TRE, pertes d'eau, héritabilité, gain génétique.

INTRODUCTION

La sélection devrait être plus efficace si des caractéristiques aussi bien morphologique que physiologiques étroitement associées au rendement sous conditions de stress sont identifiées et utilisées comme critères de criblage dans le processus classique d'amélioration des plantes. Plusieurs caractères sont rapportés dans la littérature comme ayant une liaison plus ou moins étroite avec la tolérance ou la performance sous conditions de stress. Parmi ces caractères figurent la stabilité de la membrane plasmique, la teneur relative en eau, la surface de la feuille étandard et les pertes d'eau des feuilles excisées.

De nombreuses études arrivent à cette conclusion (Matin *et al.*, 1989 ; Saadalla *et al.*, 1990 ; Sairam *et al.*, 1990 ; Clarke *et al.*, 1992 ; Peltonen *et al.*, 1995 ; Ommen *et al.*, 1999 ; Bajjii *et al.*, 2001 ; Nageswara *et al.*, 2001 ; Zaharieva *et al.*, 2001 Fella *et al.*, 2002 ; Paknejad *et al.*, 2007 ; Fotovat *et al.*, 2007 ; Mohammadi *et al.*, 2009 ; Sanchez-Rodriguez *et al.*, 2010 ; Ghobadi *et al.*, 2011 ; Datta *et al.*, 2011).

Le statut hydrique, la surface de la feuille étandard et la stabilité de la membrane plasmique sont des caractéristiques facilement mesurables, ne serait-ce que sur un nombre réduit de lignées pour choisir celles qui méritent d'être utilisées comme géniteurs. Nageswara *et al.*, (2001) rapportent que ces caractères sont corrélés avec l'efficacité de l'activité photosynthétique. De plus la valeur élevée de l'héritabilité de ces traits suggère que la sélection précoce serait effective (Lambrides *et al.*, 2004).

Le test de la stabilité de la membrane plasmique est une technique qui promet en termes de progrès en sélection pour la tolérance des stress hydriques et thermiques. Ce test peut remplacer partiellement, au moins pour l'identification des géniteurs, les tests réalisés généralement en plein champ pour sélectionner vis-à-vis des stress (Nageswara *et al.*, 2001; Fotovat *et al.*, 2007). Les tests de plein

champs ne sont pas généralement efficaces parce que le stress ciblé ne se manifeste pas seul mais en combinaison avec d'autres stress.

L'évaluation de la variabilité génétique disponible est un prérequis pour démarrer un programme de sélection et particulièrement pour choisir les parents à croiser. L'héritabilité du caractère au même titre que les coefficients de variation phénotypique et génétique, les corrélations phénotypique et génotypiques inter caractères déterminent la réponse à la sélection (Shukla *et al.*, 2006 ; Atta *et al.*, 2008).

C'est dans ce contexte que la présente recherche se fixe pour objectif d'évaluer la variabilité générée à l'intérieure d'une population F3 de blé dur pour la teneur relative en eau, la surface de la feuille étendard, les pertes d'eau des feuilles excisées et l'intégrité de la membrane plasmique.

MATERIEL ET METHODES

1. MATERIEL VEGETAL ET DISPOSITIF EXPERIMENTAL

1.1 MATERIEL VEGETAL

Le matériel végétal est constitué de la génération F3 issue des croisements Ofanto/Waha, Ofanto/ Mrb₅ et Ofanto/Mohammed Ben Bachir réalisés lors de la campagne 2005/06. Ce matériel a été utilisé pour les travaux de recherche mentionnés entre autres dans le projet CNEPRU-MESRS- N° F02 2008 0018 intitulé "Analyse de la variabilité phénotypique et sélections directe et indirecte pour le rendement et la tolérance aux stress abiotiques dans des populations dérivées -F₂ de blé dur (*Triticum durum* Desf.) sous conditions semi -arides".

1.2 DISPOSITIF EXPERIMENTAL

L'expérimentation a été conduite sur le site expérimental de l'Institut Technique des Grandes Cultures (ITGC) de Sétif au cours de la campagne agricole 2008/09. Le site expérimental est situé aux coordonnées géographiques 36° 15' N et 5° 87' E, à une altitude de 981m.

Les lignées F3 (360 lignées) sont mises en place dans un dispositif en blocs avec deux répétitions. La parcelle élémentaire a 2 rangs de 5 m de long, espacés de 20 cm, soit une surface parcellaire de 2 m². L'espace entre plantes est de 10 cm.

La campagne d'étude se caractérise par un volume pluviométrique, enregistré entre septembre et juin, de 369.8 mm. Du point de vue répartition, la campagne 2008/09 se caractérise par une répartition relativement homogène des pluies de septembre à avril, avec des maxima en janvier (70.0 mm) et avril (78.5 mm), suivie de l'absence totale de pluie au cours des mois mai et juin 2009.

L'analyse du régime thermique indique que les mois de novembre à mars enregistrent des températures moyennes inférieures à 10°C. Ces conditions thermiques ne permettent pas aux eaux des pluies automnales et hivernales d'être valorisées par la culture. Les mois d'avril, mai et juin connaissent, par contre, une élévation importante de la température de l'air, passant du dessous de 10°C à près de 25°C. Ce phénomène pousse la végétation à terminer un cycle qui vient juste de démarrer, et le raccourcissement du cycle se fait au détriment de la phase de remplissage du grain.

2. NOTATIONS

La teneur relative en eau a été mesurée sur la dernière feuille entièrement développée pour déterminer l'état hydrique des plantes selon la méthode décrite par Pask *et al.*, (2012). L'intégrité cellulaire est déterminée sur la feuille étendard

selon la méthode de Saadallah *et al.*, (1990), modifiée selon Pask *et al.*, (2012). La surface foliaire est déduite par le produit de la longueur par la largeur par le coefficient 0.607 (Spagnoletti-Zeuli et Qualset, 1990).

La déperdition d'eau des feuilles excisées (LWL = leaf water loss) a été déterminée sur un échantillon de 5 feuilles étendards, au mois de mai 2009 (Clarke *et al.*, 1989). Les 5 feuilles échantillonnées sont immédiatement mis dans une glacière contenant de la glace dans des sachets hermétiquement fermés et transportées au laboratoire où le poids frais déterminé.

Les feuilles échantillonnées sont étalées sur un paillason sous la lumière ambiante du laboratoire pour favoriser la perte d'eau par transpiration. Au terme de 30 minutes, les échantillons sont de nouveau pesés. La différence, entre le poids frais pris au temps zéro et celui pris au temps 30 minutes, donne le poids d'eau perdu.

Le poids d'eau perdue est divisé par la surface des 5 feuilles échantillonnées ce qui donne la quantité d'eau perdue, en mg par cm² de surface foliaire. Les détails des méthodes utilisées sont donnés dans la partie 'matériel et méthodes' du précédent chapitre. Les mesures sont répétées au moins deux fois par lignée F3, pour les besoins de l'analyse de la variance.

3. ANALYSE DES DONNEES

Les variables mesurées sur des plantes individuelles sont traitées par l'analyse des statistiques descriptives pour obtenir les moyennes, les valeurs minimales et maximales et les fréquences en utilisant la plus petite différence significative comme mesure de l'amplitude intra classe.

L'analyse de la variance est réalisée sur les variables prises sur deux répétitions. Les composantes de la variance sont déduites des carrés moyens des

écarts en égalant les espérances moyennes théoriques aux carrés moyens des écarts (CME) donnés par L'analyse de la variance (Tableau 16 ; Acquaaah, 2007) :

Tableau 16. Composantes de la variance (Acquaah, 2007).

Source variation	Carrés Moyens des Ecarts (CME)	CME théorique
Rep	M1	-----
Lignées	M2	$\sigma^2e + r \sigma^2g$
Erreur	M3	σ^2e

La variance génotypique (σ^2g) = (M2 -M3)/r

La variance phénotypique de la F3 (σ^2p) = $\sigma^2g + \sigma^2e$

L'héritabilité au sens large (h^2_{bs}) est déduite, selon Falconer et McKay (1996) par le rapport $h^2_{bs} = \sigma^2g / \sigma^2p$. Les coefficients de variation phénotypique (CVp) et génotypique (CVg) sont calculés selon Acquaaah (2007) :

$$CVp (\%) = 100 \times (\sigma_p / \bar{Y})$$

$$CVg (\%) = 100 \times (\sigma_g / \bar{Y})$$

Le gain génétique (GG), attendu en théorie au niveau de la descendance de la fraction sélectionnée, est déduit par la formule attribuée à Allard (1964) par Acquaaah (2007) : $GG = k \cdot \sigma_p \cdot h^2_{bs}$, où $k = 2.06$ au seuil de 5% d'intensité de sélection, σ_p est l'écart type de la variance phénotypique de la génération F₃ et h^2_{bs} comme défini plus haut. Le GG est exprimé en pourcentage de la moyenne de la population considérée (GGM) pour faciliter les comparaisons entre populations étudiées pour le caractère d'intérêt.

L'étude des relations entre les variables mesurées a été faite sur la base du calcul des coefficients de corrélations phénotypes (Sperman's rank correlation). Ces corrélations donnent une idée sur les caractères susceptibles d'être utilisés comme critères de sélection. La signification des coefficients de corrélations

phénotypiques est testée par rapport aux valeurs de la table du r , avec $n-2$ ddl et au seuil de 5% de probabilité.

RESULTATS ET DISCUSSION

1. VARIABILITE PHENOTYPIQUE

Des différences hautement significatives existent entre les lignées F3 évaluées pour les variables mesurées (Tableaux 17 et 18). Ces différences sont dues à des effets génétiques et environnementaux. Le sélectionneur est intéressé par la variation d'origine génotypique qui est héritable, et donc transmissible des parents à la descendance (Acquaah, 2007). Les moyennes des variables mesurées sont de 81.5%, 19.8 cm², 5.7 mg/cm² et 19.8%, respectivement pour la teneur relative en eau, la surface foliaire, la perte d'eau foliaire et les dommages causés à la membrane plasmique (Tableau 18).

Tableau 17. Carrées moyens des écarts de l'analyse de la variance des variables mesurées de la population F3.

Source de variation	ddl	TRE	SF	LWL	%Dom
Rep	1	1.36	8.61	0.10	27.17
Lignées	359	48.7**	17.4**	8.4**	155.9**
Erreur	359	4.34	2.8	0.47	4.4
CV%		12.6	8.3	12.2	10.6

TRE= teneur relative en eau ; % SF= surface de la feuille, cm² ; LWL= perte d'eau foliaire ; Dom= Dommages cellulaires, %.

Tableau 18. Moyenne, valeur maximale, minimale, variances génotypique, environnementale et phénotypique et coefficient de la variabilité phénotypique et génotypique caractéristiques des variables mesurées de la population F3.

	TRE	SF	LWL	%Dom
Moyenne	81.5	19.8	5.7	19.8
Maximale	95.1	27.0	11.0	52.2
Minimale	64.7	10.8	0.2	3.5
Ppds5%	4.1	3.2	1.3	4.1
σ^2g	22.2	7.3	4.0	75.8
σ^2e	4.34	2.8	0.47	4.4
σ^2p	26.5	10.1	4.4	80.2
Etg	4.7	2.7	2.0	8.7
Etp	5.1	3.2	2.1	9.0
CVg (%)	5.8	13.6	35.1	44.0
CVp (%)	6.3	16.1	37.1	45.2

TRE= teneur relative en eau ; % SF= surface de la feuille, cm² ; LWL= perte d'eau foliaire ; Dom= Dommages cellulaires, %.

L'amplitude indiquée par la différence entre les moyennes maximale et minimale représente l'équivalent de 7.4, 5.0, 8.3 et 11.4 fois de la plus petite différence significative au seuil de 5%, respectivement pour la teneur relative en eau, la surface foliaire, la perte d'eau foliaire et les dommages causés à la membrane plasmique (Tableau 18).

Ces différences assez larges méritent d'être exploitées à des fins de sélection pour améliorer le niveau des caractères analysés et dans le sens qui favorise l'expression d'un rendement grain et d'une stabilité de rendement élevés.

La distribution relative des valeurs prises par les lignées F3 et pour les variables mesurées est indiquée par les figures 26 et 27. Le sens désiré de la sélection est vers l'augmentation de la teneur relative en eau, de la surface de la feuille étandard et vers la réduction des pertes d'eau des feuilles excisées et du pourcentage des dommages causés à la membrane plasmique.

L'analyse de la distribution des fréquences de la teneur relative en eau des lignées F3 indique la présence d'une proportion très appréciable de lignées qui maintiennent une teneur relative en eau supérieure 85% (Figure 26).

Cette fraction transgressive, qui est de 25%, mérite de faire l'objet de sélection et de suivis futurs pour étudier l'effet de la teneur relative en eau sur la tolérance et les performances de rendement aussi bien sous stress qu'en absence de stress.

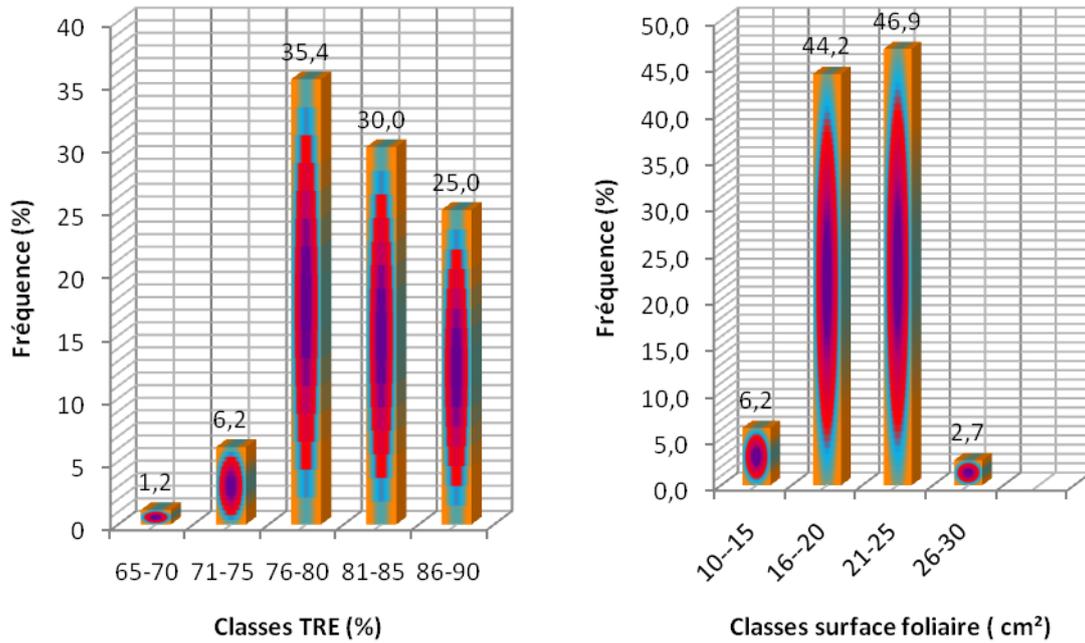


Figure 26. Fréquences de distribution des valeurs prises par la teneur relative en eau et la surface foliaire des lignées de la population F3.

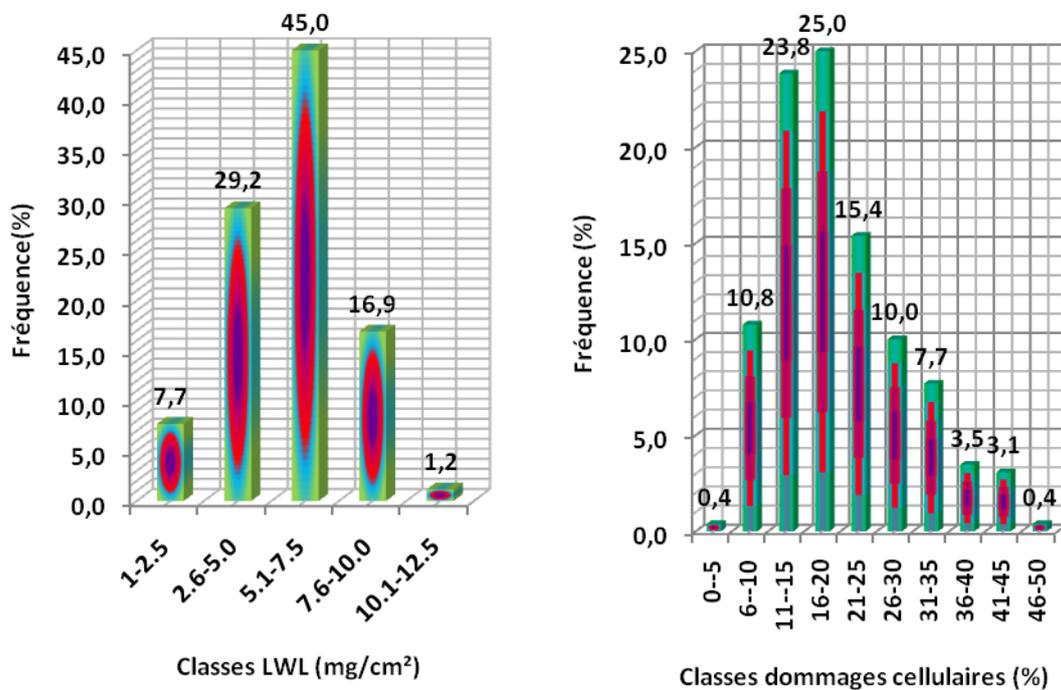


Figure 27. Fréquences de distribution des valeurs prises par les différentes lignées de la population F3 par la perte d'eau foliaire et les dommages cellulaires.

La surface de la feuille étendard montre aussi une variabilité appréciable, avec une grande proportion, plus de 90%, située dans la tranche des 16 à 25 cm² de surface (Figure 26). La fraction transgressive, extrême, quoique faible en valeur relative (%) mérite d'être sélectionnée pour l'étude de l'effet de la surface foliaire dans la tolérance et la performance de rendement. La perte d'eau des feuilles excisées et le % de dommages cellulaires montrent aussi les possibilités de sélection des lignées les plus résistantes et qui représentent 8 et 11% respectivement (Figure 27).

La variabilité mesurée par les coefficients de variation phénotypique et génotypique est jugée faible pour la teneur relative en eau ($C_v < 10\%$), moyenne pour la surface foliaire ($10\% < C_v < 20\%$) et élevée pour la perte d'eau des feuilles excisées et les dommages cellulaires dont les C_v sont supérieurs à 20% (Tableau 18 Deshmukh *et al.*, (1986) considèrent que les coefficient de la variabilité phénotypique (CV_p) et génotypique (CV_g) dont la valeur est supérieure à 20% sont élevés, ceux dont la valeur est située entre 10 et 20%, sont moyens et ceux dans la valeur est inférieure à 10% sont faibles.

Des valeurs élevées pour les CV_p et CV_g suggèrent la présence de la variabilité assez élevée, ce qui donne la possibilité d'expression des individus transgresseurs qui rendent la sélection sur la base des caractères concernés efficace (Singh *et al.*, 1994). La différence entre le CV_p et CV_g n'est pas assez importante, et de l'ordre de 3%, suggérant que l'effet de l'environnement est relativement moindre sur l'expression du génotype. Les CV_p rapportés par Fellahi *et al.*, (2013) pour la surface de la feuille étendard sont moyens à élevés, variant de 13.2 % à 29.20 %, selon les populations F2.

Sur la seule base des CV_p , les résultats de cette étude indiquent que la sélection sur la base de la surface foliaire et la teneur relative en eau serait moins aisée et peu efficace, suite à la faible variabilité présente. Par contre, elle serait plus

efficace sur la base du taux de pertes d'eau des feuilles excisées et la stabilité de la membrane plasmique. Ces caractères présentent des coefficients de variation phénotypiques élevés en valeurs. Les résultats concernant les CVg sont en accord avec ceux rapportés par Amin *et al.*, (1992), Panwar et Singh (2000), Bergale *et al.*, (2001), Dwivedi *et al.*, (2004) et Sharma *et al.* (2006).

2. CORRELATIONS ENTRE VARIABLES

L'analyse des liaisons entre les variables mesurées indique que la teneur relative en eau est liée positivement au taux de perte d'eau des feuilles excisées (Tableau 19). Cette liaison suggère que les feuilles, qui maintiennent une teneur en eau élevée, perdent plus d'eau par unité de surface, par transpiration. En effet ces type de feuilles (ou de génotypes) présentent plus d'eau à perdre par transpiration que les génotypes qui, dès le départ, partent avec un contenu relative en eau faible.

Tableau 19. Coefficients de corrélations phénotypiques (Sperman's rank correlation) entre les différentes variables mesurées de la population F3 (Au-dessous de la diagonale, coefficient de corrélation, au-dessus probabilité de signification).

	TRE	SF	LWL	% Dom
TRE		0.1030	0.0000	0.0536
SF	-0.101		0.0095	0.3742
LWL	0.4472	-0.1632		0.0061
% Dom	-0.1176	0.0550	-0.171	

TRE= teneur relative en eau ; % SF= surface de la feuille, cm² ; LWL= perte d'eau foliaire ; Dom= Dommages cellulaires, %.

La surface de la feuille étendard montre une liaison négative avec le taux de perte de l'eau des feuilles excisées. Cette liaison suggère que les feuilles aux larges dimensions perdent, par transpiration, moins d'eau par unité de surface foliaire. La sélection de génotypes aux larges feuilles serait dans ce cas désirable. La feuille étendard est un des derniers organes photosynthétiques qui restent en activité avant la maturité physiologique. Cet organe joue un rôle important au cours du remplissage du grain. Une surface de la feuille étendard foliaire plus large, capte plus de lumière et fixe plus d'hydrates de carbone qui sont favorables à un haut

rendement. Ces résultats ne corroborent pas ceux rapportés par Bouzerzour et Benmahammed, (2009) qui mentionnent que sous conditions semi-arides, la sélection, sous stress, des feuilles de tailles relativement réduites est désirable.

Le taux de déperdition de l'eau des feuilles excisées est négativement corrélé avec le pourcentage de dommages causés à la membrane plasmique. Cette liaison indique qu'à l'intérieur de la variation présente parmi les lignées F3, les lignées qui se distinguent par une stabilité membranaire élevée (donc ont un faible pourcentage de dommages) perdent, par transpiration, plus d'eau par cm² (Tableau 19).

Le taux de pertes d'eau par transpiration, des feuilles excisées, semble être coregulé génétiquement et à des degrés variables avec la teneur relative en eau, la surface de la feuille étendard et le pourcentage de dommages cellulaires. Par contre la surface de la feuille étendard, la teneur relative en eau et le % de dommages cellulaires semblent sous contrôles génétiques indépendants.

De ce fait, et si ces corrélations se maintiennent sous divers environnements, la sélection sur la base d'un faible taux de déperdition d'eau par les feuilles excisées, comme le préconisent Clarke *et al.*, (1989), engendre implicitement des variations des trois autres variables mesurées : réduction de la teneur relative en eau, augmentation de la surface de la feuille étendard et diminution de la stabilité membranaire. La comparaison des sélections L et H pour cette caractéristique et le rendement obtenu, devrait orienter sur le sens désiré de la sélection à préconiser.

3. HERITABILITE ET GAIN GENETIQUE ATTENDU DE LA SELECTION

L'héritabilité est indicatrice du degré d'expression du génotype au travers du phénotype (Acquaah, 2007). Elle représente la proportion de la variabilité phénotypique d'origine génétique, qui est héritable et fixable en totalité ou en partie, selon l'importance de la variance de dominance. L'héritabilité est utile pour

faire le choix de la méthode de sélection à employer pour améliorer le caractère ciblé. Pramoda et Gangaprasad (2007) mentionnent que les valeurs de l'héritabilité inférieures à 40 % sont considérées comme faibles, elles sont moyennes entre 40 à 60 %, élevées entre 60 et 80 % et très élevées, au-delà de 80 %.

Dans la présente étude, les valeurs prises par le degré de détermination génétique sont de 0.72 (soit 72.0%) pour la surface de la feuille étendard, 0.84 pour la teneur relative en eau, 0.89 pour le taux de perte d'eau des feuilles excisées et de 0.95 pour le pourcentage de dommages causés à la membrane plasmique (Tableau 20). Les valeurs observées dans la présente étude sont élevées à très élevées et sont proches de ce qui est rapporté dans la littérature.

Saadalla *et al.*, (1990) ainsi que Fokar *et al.*, (1998) rapportent une héritabilité très élevée pour pourcentage de dommage cellulaires. Hussain *et al.*, (2013) rapportent une héritabilité moyenne pour la surface de la feuille étendard. Khan *et al.* (2003) rapportent des valeurs de l'héritabilité au sens large pour la surface de la feuille étendard variant de 66.3 à 85.0%, dans des populations F2 issues de 6 croisements de blé tendre.

Des valeurs élevées de l'héritabilité sont rapportées pour la surface de la feuille étendard par Ahmad (1991), chez le blé tendre. Mandal *et al.*, (2008) font remarquer qu'une héritabilité élevée est due à des effets additifs qui assurent que la sélection de la descendance serait efficace.

Tableau 20. Héritabilité au sens large, gain génétique attendue en sélection, exprimé en valeur réelle et relativement à la moyenne de la population de base pour les différentes variables mesurées de la population F3.

	TRE	SF	LWL	%Dom
h ² sl	0.84	0.72	0.89	0.95
GG	8.9	4.7	3.9	17.4
GGM (%)	11	24	68	88

TRE= teneur relative en eau ; % SF= surface de la feuille, cm² ; LWL= perte d'eau foliaire ; Dom= Dommages cellulaires, %.

La valeur de l'héritabilité, seule, ne fournit aucune indication sur le degré d'amélioration attendue de la sélection d'un caractère donné, chez la descendance. De ce fait, il est utile de calculer, en parallèle du degré de détermination génétique, le gain génétique attendu en sélection (Acquaah, 2007).

En effet et selon Fellahi *et al.*, (2013), des valeurs de l'héritabilité couplées avec un gain génétique élevés, suggèrent la possibilité de sélectionner au sein des populations afin de développer de nouveaux génotypes présentant des caractéristiques souhaitables, parce que les effets génétiques de tels caractères sont de nature additive et donc sont fixables chez la descendance.

Les valeurs observées du gain génétique attendu de la sélection (GG) observées dans la présente étude sont de 8.9%, 4.7 cm², 3.9 mg/cm² et 17.4%, respectivement pour la teneur relative en eau, la surface de la feuille étandard, le taux de déperdition de l'eau des feuilles excisées et le pourcentage de dommages cellulaires (Tableau 20). Exprimées en pourcentage de la moyenne de la population, ces valeurs sont de 11.0%, 24.0%, 68% et 88%, respectivement pour les différentes variables, dans l'ordre cité ci-dessus.

Ces chiffres confirment les gains attendus théoriquement de la sélection sur la base des pertes d'eau des feuilles excisées et du pourcentage de dommages cellulaires. Ces résultats suggèrent que les possibilités d'améliorer les traits LWL et % Dom existent, suite à la variabilité d'origine génétique fixable, donc de nature additive. Cependant cette possibilité est faible, à l'intérieur du matériel génétique produit par croisement, pour la TRE et la SF (Tableau 20).

Dans ce contexte Johnson et Hernandez (1980) mentionnent que des coefficients de variation élevés, associés à des héritabilités élevées et à des gains génétiques conséquents, fournissent de meilleures informations prédictives que chacun de ces paramètres pris séparément. Ainsi Mandal *et al.*, (2008) rapportent

une faible héritabilité ainsi qu'une faible valeur du gain génétique (GG) pour la surface de la feuille étendard, ce qui corroborent les résultats de la présente étude, pour ce caractère. Ces auteurs mentionnent que, dans de tels cas, il y a prédominance de la variation de nature non additive dans l'expression du caractère analysé. La sélection précoce de tels caractères serait relativement peu efficace. Dans de tels cas, il serait plus judicieux de faire avancer le matériel végétal vers un degré de fixité plus avancé avant de débiter la sélection.

CONCLUSION GENERALE

Les caractères physiologiques et biochimiques sont perçus comme d'intéressants outils de criblage pour la tolérance pour améliorer simultanément le potentiel et la stabilité des performances sous stress. Cette étude a été conduite pour analyser la capacité de discrimination des tests physiologiques appliqués aux génotypes de blé dur (*Triticum durum* Desf.) soumis au choc thermique au stade plantule et d'étudier les liaisons avec les indices de tolérance des stress (P, S et STI) du rendement grain. Une variabilité appréciable de réponses a été observée chez les huit variétés évaluées

Le choc thermique affecte significativement l'efficacité photochimique du PSII diminuant les paramètres F_m , F_v , et F_v/F_m proportionnellement à l'intensité du stress. Une variabilité des réponses appréciable d'une variété à l'autre est notée en ce qui concerne la réduction du rapport F_v/F_m . Ce ratio classe Waha comme tolérant, alors que Korifla et Vitron sont classés comme sensibles. Ces résultats suggèrent que le rendement quantique peut servir comme test d'évaluation de la résistance au choc thermique des variétés de blé dur.

Une diversité quantitative et qualitative appréciable des protéines nouvellement synthétisées, dont le poids moléculaire varie de 4 à 168 kD, apparaît sous choc thermique. L'augmentation du nombre de bandes exprimées est notée chez tous les génotypes avec cependant une variation appréciable entre génotypes. Le nombre de bandes présentes chez Korifla diminue progressivement en fonction du stress, alors que l'inverse est observée chez Waha. Le choc thermique induit chez Bousselam la synthèse de nouvelles protéines de 8 et 78 kD, sous stress de 30 minutes et la répression des protéines de 71 et 100 kD.

Les principales différences entre génotypes ou groupes de génotypes sont essentiellement liées à la synthèse et à la répression des protéines. La différence

entre les génotypes tolérants et sensibles au choc thermique est liée à l'intensité d'accumulation des HSPs qui est plus importante chez les génotypes tolérants que chez les génotypes sensibles. Le choc thermique induit l'accumulation de la proline et des sucres solubles. Cette accumulation est variable en fonction de l'intensité du stress et du fond génétique évalué. Korifla et Mrb₃ et à un degré moindre Ofanto et Vitron accumulent de la proline proportionnellement au degré du choc thermique subi. L'accumulation des sucres change significativement, en quantité, en fonction du degré de stress chez Waha, Bousselam et Tajdid.

Le contenu en chlorophylle et la teneur relative en eau diminuent alors que les dommages causés à la membrane plasmique augmentent en fonction de l'intensité du choc thermique. Bousselam et Mrb₃ sont tolérants parce qu'ils minimisent la baisse du contenu en chlorophylle sous stress. Ofanto et à un degré moindre Waha sont considérés comme sensibles

Bousselam et Gaviota *durum* minimisent la variation de la teneur relative en eau sous stress sévère comparativement à Vitron, Tajdid et Ofanto qui présentent de larges différences de teneur relative en eau sous choc thermique. Vitron est plus sensible au choc thermique mesuré par le % de dommages cellulaires, alors que Bousselam est le moins sensible. La longueur du coléoptile et la surface de la feuille sont significativement affectées par le choc thermique. Vitron, Korifla, Mrb₃ et Bousselam sont tolérants, ils présentent une faible réduction de la croissance de la coléoptile. Par contre, Ofanto, Tajdid, Gaviota *durum* et Waha sont significativement affectés. Les coefficients de corrélations de rangs montrent que les variables mesurées sont dans l'ensemble peu corrélées entre elles. Sous stress de 30 minutes de durée, comme sous celui de 60 minutes, le ratio Fv/Fm est corrélé avec l'indice P.

La photosynthèse est donc moins affectée par le choc thermique chez les génotypes qui se caractérisent par un indice P de faible valeur. Le ratio Fv/Fm est

indicateur de la performance et de la stabilité du rendement grain sous stress. Ces résultats indiquent que parmi les tests de laboratoire réalisés, seul le rendement quantique apparaît comme un test apte à prédire le comportement des génotypes à haut rendement et stables (tolérants) et ceux qui sont sensibles à la variation environnementale.

Les résultats indiquent la présence de la variabilité entre les différentes lignées pour les variables analysées. L'amplitude représente l'équivalent de 7.4, 5.0, 8.3 et 11.4 fois la plus petite différence significative respectivement pour la teneur relative en eau, la surface foliaire, la perte d'eau foliaire et les dommages causés à la membrane plasmique. L'analyse de la distribution des fréquences des variables analysées indique la présence de transgresseurs dans le sens désiré de la sélection. Ainsi 25% des lignées F3 ont une teneur relative en eau supérieur à 85%, 3% ont une surface de la feuille étendard plus de 26 cm², 8% des lignées ont un faible taux de déperdition de l'eau des feuilles excisées et 11% ont un faible taux de dommages cellulaires.

La variabilité mesurée par les coefficients de variation phénotypique est faible pour la teneur relative en eau, moyenne pour la surface foliaire et élevée pour la perte d'eau des feuilles excisées et les dommages cellulaires. Les valeurs prises par l'héritabilité au sens large sont élevées à très élevées. Le gain génétique attendu de la sélection est de 8.9%, 4.7 cm², 3.9 mg/cm² et 17.4%, respectivement pour la teneur relative en eau, la surface de la feuille étendard, le taux de déperdition de l'eau des feuilles excisées et le pourcentage de dommages cellulaires, soit 11.0%, 24.0%, 68% et 88% de la moyenne de la population de base. Ces résultats suggèrent que les possibilités d'améliorer les traits LWL et % Dom existent, suite à la variabilité d'origine génétique fixable, donc de nature additive. Cependant cette possibilité est faible, à l'intérieur du matériel génétique produit par croisement, pour la TRE et la SF.

Le taux de pertes d'eau par transpiration, des feuilles excisées, semble être coregulé génétiquement et à des degrés variables avec la teneur relative en eau, la surface de la feuille étendard et le pourcentage de dommages cellulaires. Par contre la surface de la feuille étendard, la teneur relative en eau et le % de dommages cellulaires semblent sous contrôles génétiques indépendants. La sélection sur la base d'un faible taux de déperdition d'eau par les feuilles excisées engendre implicitement des variations des trois autres variables mesurées : réduction de la teneur relative en eau, augmentation de la surface de la feuille étendard et diminution de la stabilité membranaire. La comparaison des sélections L et H pour cette caractéristique et le rendement obtenu, devrait orienter sur le sens désiré de la sélection à préconiser. La sélection précoce de tels caractères serait relativement peu efficace. Dans de tels cas, il serait plus judicieux de faire avancer le matériel végétal vers un degré de fixité plus avancé avant de débiter la sélection.

Dans l'ensemble, les résultats indiquent que le rendement quantique peut servir comme critère de criblage précoce pour identifier le germoplasme tolérant aux stress hydriques et thermiques et certains caractères comme l'accumulation des solutés et la stabilité membranaire, mesurés à un stade précoce, ne semble pas avoir de liaisons avec la tolérance exprimée à un stade tardif sous forme de minimisation de la baisse du rendement sous stress. Les résultats obtenus indiquent que la population étudiée est d'un important intérêt pour le programme d'amélioration et qu'un progrès substantiel peut être réalisé suite à la sélection sur la base des caractères morpho-physiologique analysés pour améliorer la tolérance vis-à-vis des stress et la performance de rendement.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abbassenne F., H. Bouzerzour, L. Hachemi. 1998. Phénologie et production du blé dur (*Triticum durum* Desf.) en zones semi-aride. *Annales Agronomie INA.*, **18**: 24-36.
- Abdalla MM., NH. El -Khoshiban. 2007. The influence of water stress on growth, relative water content, photosynthetic pigments, some metabolic and hormonal contents of two *Triticum aestivum* cultivars. *J. Appl. Sci.*, **3**: 2062-2074.
- Abernethy RH., DS. Thiel, NS. Petersen, K. Helm. 1989. Thermo-tolerance is developmentally dependent in germinating wheat seed. *Plant Physiol.*, **89**: 596-576.
- Acevedo E., PQ.Craufurd, RB. Austin, P. Perez-Marco. 1991. Traits associated with high yield in barley in low-rainfall environments. *J. Agric. Sci., Camb.*, **116**: 23-36.
- Acevedo E., P.Silva, H.Silva, B. Solar. 1999. Wheat production in Mediterranean environments. In: Wheat: Ecology and Physiology of Yield Determination. p. 295–331. Satorre, E. H., and Slafer, G. A. Eds., *Food Product Press, New York*.
- Acquaah G., 2007. Principles of plant genetics and breeding. Blackwell Publishing, Oxford, UK. 250 p.
- Adams W W., B. Demmig-Adams, K.Winter, U. Schreiber. 1990. The ratio of variable to maximum chlorophyll fluorescence from photosystem II, measured in leaves at ambient temperature and at 77K, as an indicator of the photon yield of photosynthesis. *Planta.*, **180**: 166-174.
- Adjabi A., H. Bouzerzour, A. Benmahammed. 2014. Stability analysis of durum wheat (*Triticum Durum* Desf.) grain yield. *Journal of Agronomy.*, **13**: 131-139.
- Ahmad Z., 1991. Co-heritability among yield and yield components in wheat. *Sarhad.J. Agric.*, **7**(1):65-76.
- Ahn YJ., JL. Zimmerman. 2006. Introduction of the carrot HSP17.7 into potato (*Solanum tuberosum* L.) enhances cellular membrane stability and tuberization in vitro. *Plant Cell Environ.*, **29**, 95–104
- Al-Hakimi A., P. Monneveux. 1993. Morpho-physiological traits related to drought tolerance in primitive wheats. In: A. B. Damania (ed.), Biodiversity and Wheat Improvement. 199-217. *Academic Press, New York*.
- Ali-Dib T., Ph.Monneveux, E. Acevedo, MM. Nachit. 1994. Evaluation of proline analysis and chlorophyll fluorescence quenching measurements as drought tolerance indicators in durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. durum). *Euphytica.*, **79** (1-2): 65-73.
- Al-Khatib K., GM. Paulsen. 1984. Mode of high temperature injury to wheat during grain development. *Physiologia Plantarum.*, **61**: 363-368.
- Allard RW., 1964. Principles of Plant Breeding, 3rd Edition. John Willey and Son Eds, 247 p.
- Al-Whaibi MH., 2011. Plant heat-shock proteins: A mini review. *J. King Saud University – Science.*, **23** : 139–150
- Annicchiarico P., L. Pecetti. 1995. Morpho-physiological traits to complement grain yield selection under semi-arid Mediterranean conditions in each of the durum wheat type's mediterraneum typicum and syriacum. *Euphytica.*, **86**: 191-198.
- Annicchiarico., Mariani. 1996. Prediction of adaptability and yield stability of durum wheat genotypes from yield response in artificially drought-stressed conditions. *Field Crops Res.*, **46**: 7 1-80.

- Annicchiarico P., 2002. Genotype by environment interactions: Challenges and opportunities for plant breeding and cultivar recommendations. FAO, Rome, 159 p.
- Annicchiarico P., F. Bellah, T. Chiari. 2005. Defining sub regions and estimating benefits for a specific adaptation strategy by breeding programs: A case study. *Crop Sci.*, **45**: 1741-1749.
- Annicchiarico P., F. Bellah, T. Chiari. 2006. Repeatable genotype x location interaction and its exploitation by conventional and GIS-based cultivar recommendation for durum wheat in Algeria. *Eur. J. Agronomy.*, **24**: 7081.
- Al-Whaibi MH.,2011. Plant heat-shock proteins: A mini review. *J. King Saud University – Science.*, **23** : 139–15.
- Allard RW.,1964. Principles of Plant Breeding, 3rd Edition. John Willey and Son Eds, 247 p.
- Amin MR., NCD.Barma, MA. Razzague.1992. Variability, heritability, genetic advance and correlation study in some quantitative characters in durum wheat. *Rachis. News Letter.*, **11**: 30 - 32.
- Araus JL., T. Amaro, Y. Zuhair, MM. Nachit. 1994. Effect of leaf structure and water status on carbon isotope discrimination in field-grown durum wheat. *Plant Cell Environ.*, **20**: 1484–14
- Araus JL., T. Amaro, Y. Zuhair, MM., Nachit. 1997. Effect of leaf structure and water status on carbon isotope discrimination in field-grown durum wheat. *Plant Cell Environ.*, **20**:1484-1494.
- Araus JL., T. Amaro, J. Voltas, H. Nakkoul, M.M. Nachit. 1998. Chlorophyll fluorescence as a selection criterion for grain yield in durum wheat under Mediterranean conditions. *Field Crops Research.*, **55**: 209-223.
- Araus JL., G.Aslafer, MP.Reynolds, C.Royo. 2002. Plant breeding and water relations in C3 cereals: What to breed for? *Ann. Bot.*, **89**: 925–940.
- Arnon D.I., 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*.*Plant Physiology.*,**24**: 1-15.
- 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**: 601-637
- Asseng S., NC. Turnera, JD. Rayb, BA. Keatingc. 2002. A simulation analysis that predicts the influence of physiological traits on the potential yield of wheat. *European J. Agron.*, **17**: 123–41
- Asseng S., I. Foster, N C. Turner. 2010. The impact of temperature variability on wheat yields. *GlobalChange Biol.*, **17**: 997-1012 .
- Asseng S., I. Foster, N C. Turner. 2011 The impact of temperature variability on wheat yields. *Global Change Biol.* **17**, 997-1012.
- Atta BM., Haq MA, Shah TM.2008. Variation and inter relationships of quantitative traits in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Pak J Bot* **40**: 637–647.*News Letter.*, **11**: 30 – 32.
- Ayeneh A., M. van Ginkel, MP. Reynolds, K. Ammar. 2002. Comparison of leaf, spike, peduncle and canopy temperature depression in wheat under heat stress. *Field Crops Res.*, **79**:173–184.
- Azimzadeh SM., SJ. Azimzadeh.2011. Study on drought tolerance of twelve varieties of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) in east part of Iran. *Advances in Environmental Biology.*, **5**: 3256-3262

- Babani F., P. Mathis. 1995. Effect of high temperature on some wheat varieties via chlorophyll fluorescence. Proceeding of the Xth International Photosynthesis congress, Montpellier, France., 797-800
- Babar MA., MP. Reynolds, M. van Ginkel, AR. Klatt, WR. Raun, ML. Stone. 2006. Spectral reflectance to estimate genetic variation for in-season biomass, leaf chlorophyll, and canopy temperature in wheat. *Crop Sci.*, **46**:1046–1057.
- Bahlouli F., H. Bouzerzour, A. Benmahammed, KL. Hassous. 2005. Selection of high yielding and risk efficient durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars under semi arid conditions. *Pakistan Journal of Agronomy.*, **4**:360-365.
- Bajjii M., JM.Kinet, S. Lutts. 2001. The use of the electrolyte leakage method for assessing cell membrane stability as a water stress tolerance test in durum wheat. *Plant Growth Reg.*,1-10.
- Baker NR., 2008. Chlorophyll fluorescence: A probe of photosynthesis *in vivo* Annu. Rev. *Plant Biol.*, **59**:89–113
- Balanos J., GO. Edmeades. 1988. CIMMYT strategies for drought tolerance in tropical maize. In Unger, P.W.,T. V. Sneed, W.R. Jordan, and R. Jensen (ed.). Int. Conf. on Dry Farming. Aug., 15-19. Amarillo, Texas, Texas Agric. Expt. Stn.
- Baldy G., 1974. Contribution à l'étude fréquentielle des conditions climatiques et de leurs influences sur la production des principales zones céréalières d'Algérie. *INRA Département de bioclimatologie. Ministère de l'Agriculture.* 170 p
- Balota M., H.K. Lichenthaler. 1999. Red chlorophyll fluorescence as an ecophysiological method to assess the behavior of wheat genotypes under drought and heat". *Cereal Research Communication.*, **27**: 179-187
- Balota M., WA. Payne, SR. Evett, MD. Lazar. 2007. Canopy temperature depression sampling to assess grain yield and genotypic differentiation in winter wheat. *Crop Sci.*, **47**:1518–1529.
- Balouchi HR., 2010. Screening wheat parents of mapping population for heat and drought tolerance, detection of wheat genetic variation. *International Journal of Biological and Life Sciences* **6**:56- 66.
- Bates, L.S., R.P. Waldrem I.D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil.*, **39**: 205-208.
- Barrs HD., PE.Weatherley. 1962. Areexamination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves.*Aust. J. Biol. Sci.*,**24**: 519-570.
- Bates LS., RP. Waldrem, ID. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil.*,**39**: 205-208.
- Benbelkacem A., 2013. Rapport des résultats du projet "Enhancing Food Security in Arab Countries' Icarda-INRAA. 35 pages.
- Benmahammed A., A. Djekoun, H. Bouzerzour, KL Hassous. 2005. Efficacité de la sélection précoce de la biomasse chez l'orge (*H. vulgare* L.) en zone semi-aride. *Revue Sciences et Technologie.*, **C22**: 80-85.
- Benmahammed A., H.Nouar, L.Haddad, Z.Laala, A.Oulmi, H.Bouzerzour. 2010a. Analyse de la stabilité des performances de rendement du blé dur (*Triticum durum* Desf.) sous conditions semi-arides. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, **14** :177-186.
- Benmahammed A., M. Kribaa, H. Bouzerzour, A. Djekoun .2010b. Assessment of stress tolerance in barley (*Hordeum vulgare* L.) advanced breeding lines under semi-arid conditions of the eastern high plateaus of Algeria. *Euphytica.*, **172**: 383–394.

- Bergale S., M.Billore, AS.Holkar, KN.Ruwali, SVS.Prasad.2001. Genetic variability, diversity and association of quantitative traits with grain yield in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Madras Journal of Agriculture.*, **88**: 457-461.
- Bilge B., M. Yildirim, C. Barutcular, I. Genc. 2008. Effect of canopy temperature depression on grain yield and yield components in bread and durum wheat. *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj.*, **36**:34-37.
- Blum A., A. Ebercon. 1981. Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat. *Crop Sci.*, **21**: 43-47.
- Blum A., L. Shpiler, G. Golan, J. Mayer. 1986. Yield stability and canopy temperature of wheat genotypes under drought stress. *Field Crops Research.*, **22** : 289-296.
- Blum A., 1988. Plant Breeding for stress environments. *CRC Press Inc Florida, USA*. 223 p.
- Blum A., Y. Pnuel. 1990. Physiological attributes associated with drought resistance of wheat cultivars in a Mediterranean environment. *Aust. J. Agric. Res.*, **41**: 799-810.
- Blum A., 1996. Crop responses to drought and the interpretation of adaptation. *Plant Growth Regulation.*, **20**: 135-148.
- Bolanos J., G.O. Edmeades. 1988. Eight cycles of selection for drought tolerance in lowland tropical maize. I. Responses in yield biomass and radiation utilization. *Field Crops Res.*, **28**:233-252
- Bolhar-NordRenkampf HR., S.P. Long, NR. Baker, G. Oquist, U. Schreiber, EG. Lechner. 1989. Chlorophyll fluorescence as a probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: a review of current instrumentation. *Functional Ecol.*, **3**: 497-514.
- Bousslama M., WT. Schapaugh.1984. Stress tolerance in soybeans. Evaluation of three screening techniques for heat and drought tolerance., *Crop Sci.*, **24**: 933.
- Bouzerzour H., H. Zerargui, M. Dekhili. 1994. Relationships among duration of vegetative and grain filling periods, yield components and grain yield in durum wheat. *Awamia.*, **75**:15-23.
- Bouzerzour H., Djekoun A. 1996. Variabilité des rendements de l'orge (*Hordeum vulgare* L.) en zone semi aride d'altitude. I. Interaction génotype lieu. *Revue des Sciences et Technologie Université de Constantine.*, **7**: 16-18.
- Bouzerzour H., Djekoun, A. Benmahammed, L. Hassous.1998. Contribution de la biomasse aérienne de l'indice de récolte et de la précocité à l'épiaison au rendement en grain (*Hordeum vulgare* L.) en zone semi d'altitude. *Cahiers de l'Agriculture.*, **8** : 133-137.
- Bouzerzour H., A. Benmahammed, N. Benkahrbache, KL. Hassous. 2002. Contribution des nouvelles obtentions à l'amélioration et à la stabilité du rendement d'orge (*Hordeum vulgare* L.) en zone semi-aride d'altitude. *Revue Recherche Agronomique (INRAA).*, **10**: 45-58,
- Bouzerzour H., A. Benmahammed. 2009. Variation in early growth, canopy temperature, translocation and yield of four durum wheat (*Triticum durum* Desf.) genotypes under semi-arid conditions. *Dirassat Journal of Agricultural Sciences, Jordan Univ.*, **5**: 142-154.
- Brandle JE., PBE.Mcvetty.1989.Heterosis and combining ability in hybrids derived from oilseed rape cultivars and inbred lines. *Crop science.*, **29** :1191-1195.
- Bukhov N G., S. Sabat, C. Mohanty P. 1990, Analysis of chlorophyll *a* fluorescence changes in weak light in heat-treated *Amaranthus* chloroplasts. *Photosynth.* 18357.
- Burke JJ., JL. Hatfield, RR. Klein, JE. Muller. 1985. Accumulation of heat shock proteins in field growth cotton. *Plant Physiol.*, **78**:394-398.

- Camejo D., P. Rodriguez, MA. Morales, JM. Dell.amico, A. Torrecillas, JJ. Alarcon. 2005. High temperature effects on photosynthetic activity of two tomato cultivars with different heat susceptibility, *J. Plant Physiol.*, **162**:281-289.05
- Cattivelli L., P.Baldi, C.Crosatti, N.Di Fonzo, P. Faccioli, M. Grossi, AM.Mastrangelo, N.Pecchioni, AM.Stanca. 2002. Chromosome regions and stress-related sequences involved in resistance to abiotic stress in Triticeae. *Plant Mol. Biol.*, **48**: 649–665.
- Ceccarelli S., E. Acevedo, S. Grandó. 1991. Breeding for yield stability in unpredictable environments: single traits, interaction between traits, and architecture of genotypes. *Euphytica.*, **56**: 169- 185.
- Chandrashekar KR., S. Sandhyarani, JH.Cheriani. 2000. Salinity induced chemical changes in *Crotalaria striata* Dc. plants. *Ind. J. Plant Physiol.*, **1** : 44–48.
- Cheeseman LM., 1988. Mechanisms of salinity tolerance in plants. *Plant Physiol.*, **87**: 547-550.
- Chenafi H., A. Aïdaoui, H. Bouzerzour, A. Saci 2006. Yield response of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivar Waha to deficit irrigation under semi arid growth conditions. *Asian Journal of Plant Sciences.*, **5**:854- 860.
- Cherian S., RB. Ferreira. 2010. Analysis of *Lupinus albus* heat-shock granule proteins in response to high temperature stress. *Biologia Plantarum.*, **54**(3): 587-591.
- Chou M., YM. Chen, CY. Lin. 1989. Thermotolerance of isolated mitochondria associated with heat shock proteins. *Plant Physiol.*, **89**:617-21.
- Clarke AK., C. Critchley. 1990. Synthesis of early heat shock proteins in young leaves of barley and sorghum. *Plant Physiology.*, **94**: 567-576.
- Clarke J M., TN. McCaig. 1982. Evaluation of techniques for screening for drought resistance in wheat. *Crop Sci.*, **22**: 503–506.
- Clarke J M., L.Romagosa, S.Jana, JP.Srivastava. TN. McCaig. 1989. Relationships of excised-leaf water loss rate and yield of durum wheat in diverse environments. *Can. J. Plant Sci.*, **69**: 1075–1081.
- Clarke JM., Romagosa, RM. DePauw. 1991. Screening durum wheat germplasm for dry growing conditions. Morphological and physiological criteria. *Crop Sci.*, **31**: 770-775.
- Clarke JM., RM. DePauw,TF. Townley-Smith. 1992. Evaluation of methods for quantification of drought tolerance in wheat. *Crop Sci.*, **32**: 723-728.
- Clarke JM., TN. McCaig, RM. DePauw. 1994. Inheritance of glaucousness and epicuticular wax in durum wheat. *Crop Sci.*, **34**: 327-330.
- Cossani CM., MP. Reynolds. 2012. Physiological traits for improving heat tolerance in wheat. *Plant Physiol.*, **160**: 1710-1718 .
- Cropstat 7.2. 3. 2007. Free Software package for windows, *International Rice Research Institute, IRRI, Manila*.
- Cseuz L., 2009. Possibilities and limits of breeding wheat (*Triticum aestivum* L.) for drought tolerance. PhD Thesis SzentIstvan Univ. 18 p
- Datta JK., T.Mondal, A.Banerjee, NK. Mondal. 2011. Assessment of drought tolerance of selected wheat cultivars under laboratory condition. *J. Agri.Technol.*, **7**: 383-393.
- Dash S., N. Mohanty. 2001. Evaluation of assays for the analysis of thermo-tolerance and recovery potentials of seedlings of wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *J. Plant Physiol.*, **158**: 1153–1165
- De Leonardis AM., D.Marone, E.Mazzucotelli, F.Neffar, F.Rizza , NDi Fonzo ,L.Cattivelli , AM. Mastrangelo. 2007. Durum wheat genes up-regulated in the early phases of

- cold stress are modulated by drought in developmental and genotype dependent manner. *Plant Sci.*, **172**:1005–1016.
- Dedio W., 1975. Water relations in wheat leaves as screening tests for drought resistance. *Can. J. Plant Sci.*, **55**: 369-378.
- Demirevska-Kepova K., R. Hölzer, L. Simova-Stoilova, U. Feller. 2005. Heat stress effects on ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase, rubisco binding protein and rubisco activase in wheat leaves. *Biol. Plantarium.*, **49**:521–525.
- Deshmukh VV., VK. Mohod, MK. Pande, SR. Golhar.1999. Variability, heritability and genetic advance in upland cotton (*G. hirsutum* L.). *PKV Research Journal.*, **23** : 21-23.
- Dhanda SS., GS. Sethi. 1996. Genetics and interrelationships of grain yield and its related traits in bread wheat under irrigated and rainfed conditions. *Wheat Info Ser.* No.83, p.19-27.
- Dhanda SS., R. Sethi. 1998. Heat tolerance in relation to acquired thermotolerance for membrane lipids in bread wheat. *Field Crops Res.*, **135**: 30–37
- Dhanda SS, GS.Sethi, RK.Behl. 2004. Indices of drought tolerance in wheat genotypes at early stages of plant growth. *J Agron Crop Sci.*, **190**:6-12
- Dicko MH., H.Gruppen, R.Hilhorst, AGJ.Voragen, WJH.van Berkel. 2006. Biochemical characterization of the major cationic sorghum peroxidase. *FEBS Journal.*, **273**:2293-2307.
- Dobrowski S Z., JC. Pushnik , PJ. Zarco-Tejada, SL. Ustin. 2005. Simple reflectance indices track heat and water stress-induced changes in steady-state chlorophyll fluorescence at the canopy scale. *Remote Sens. Environ.*, **97**:403–414.
- Dorion S., S.Lalonde, HS.Saini.1996.Induction of mal sterility in wheat by meiotic stage water deficit is preceded by a decline in invertase activity and change in carbohydrate metabolism in anthers. *Plant physiol.*,**111** :137-145
- Dwivedi AN., IS .Pawar, S.Madan .2004 Studies on variability parameters and characters association among yield and quality attributing traits in wheat. *Journal of Crop Research.*, **32**: 77-80.
- Ehdaie B., BGA. Alloush, MA. Madore, JG. Waines. 2006. Genotypic variation for stem reserves and mobilization in wheat: I. Post-anthesis changes in internode dry matter. *Crop Science.*, **46**: 735-746
- Elong SP., S. Humphries, PG.Falkowski. 1994. Photoinhibition of photosynthesis in nature. *Annu. Rev. Plant Physiol. PlantMol. Biol.*, **45**: 633-662.
- Eyletters M., Bourrié B. 1996. La fluométrie: un outil pour étudier les déficiences nutritionnelles de la vigne et mesurer l'effet des apports d'engrais, *Phytoma.*, **489** : 58-60.
- Falconer DS., FC.Mackey.1996. Introduction to quantitative genetics.4th ed., Longman, New York,p: 464
- Faostat., 2011. Stastical Database of the Food and Agriculture Organisation of the United Nations.
- Faostat., 2013. Stastical Database of the Food and Agriculture Organisation of the United Nations.
- Farshadfar E., R. Mohammadi, J. Shutka.2002. Association between field and laboratory predictors of drought tolerance in wheat disomic addition lines. *Acta Agron. Hungarica.*, **50**:277-381.

- Farshadfar E., 2012. Application of integrated selection index and rank sum for screening drought tolerant genotypes in bread wheat. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences.*, **4**: 325-332.
- Fellah A., H. Bouzerzour, A. Benmahammed, A. Djekoun. 2002. Sélection pour améliorer la tolérance aux stress abiotiques chez le blé dur (*T. durum* Desf.). *Actes de l'IAVHIII.*, **64**: 35-42.
- Fellahi Z., 2013. Aptitude à la combinaison et héritabilité de quelques caractères agronomiques du blé tendre (*Triticum aestivum* L.). Mémoire de Magistère, Université Saad Dahlab- Blida. 136 p.
- Fernandez GCJ.,1992. Effective selection criteria for assessing stress tolerance. In: Kuo C.G. (Ed.), Proceedings of the International Symposium on Adaptation of Vegetables and Other Food Crops in Temperature and Water Stress, Publication, Tainan, Taiwan.
- Fernandez GC.J., 1993. Effective selection criteria for assessing plant stress tolerance. In: Proceedings of Symposium. Taiwan, 13-16 Aug. Chapter., **25**: 257-270
- Fischer R A., R. Maurer. 1978. Drought resistance in spring wheat cultivars. I. Grain yield response. *Aust. J. Agric. Res.*, **29**: 897-912.
- Fischer RA., 1985. Number of kernels in wheat crops and the influence of solar radiation and temperature. *Journal of Agricultural Sciences* ., **105**: 447-461.
- Fischer R A., D. Rees, K D. Sayre, Z M. Lu, A G. Condon, A. Larque Saavedra. 1998. Wheat yield progress associated with higher stomatal conductance and photosynthetic rate, and cooler canopies. *Crop. Sci.*, **38**: 1467-1475.
- Flagella Z., D.Pastore, R.G.Campanile, N.Di Fonzo. 1994. Photochemical quenching of chlorophyll fluorescence and drought tolerance in different durum wheat (*Triticum durum*) cultivars. *J. Agric. Sci., Cambridge.*, **122** (2): 183-192.
- Flagella Z., D.Pastore, RG.Campanile, NDi Fonzo.1995. The quantum yield of photosynthetic electron transport evaluated by chlorophyll fluorescence as an indicator of drought tolerance in durum wheat. *J. Agric. Sci., Cambridge.*, **125** (3):325-329.
- Fokar M., HT. Nguyen, A. Blum. 1998 a. Heat tolerance in spring wheat. I. Estimating cellular thermotolerance and its heritability. *Euphytica.*, **104**:1-8.
- Fotovat R., M. Valizadeh, M. Toorchi 2007. Association between water-use efficiency components and total chlorophyll content (SPAD) in wheat (*T. aest.* L.) under well-watered and drought stress conditions. *J. Food. Agri. Environ.*, **5**: 225-227.
- Ghobadi M., S.Khosravi, D.Kahrizi, F.Shirvani. 2011. Study of Water Relations, Chlorophyll and their Correlations with Grain Yield in Wheat (*Triticum aestivum* L.) Genotypes. *World Academy of Science, Engineering and Technology.*, **78**: 582-585.
- Gholami M., M. Rahemi, S. Rastegar .2012. Use of rapid screening methods for detecting drought tolerant cultivars of fig (*Ficus carica* L.). *Scientia Horticulturae.*, **143**: 7-14
- Guo R W., P. Hao, D Z. Gong, X L. Zhong, F X. Gu. 2013. Effects of water stress on germination and growth of wheat, photosynthetic efficiency and accumulation of metabolites. *Chap book. 13. InTech.*,367-380
- Hakimi M., 1993. Les systèmes traditionnels basés sur la culture de l'orge. Proc.Symp. On the agro meteorology of rainfed barley based farming system .Ends WMO/ICARDA/179-183.
- Hallauer A R., JB. Miranda. 1984. Quantitative genetics in Maize breeding. Iowa State University, *Ames Iowa.* 375 pages.

- Hammer O., DAT. Harper, PD. Ryan. 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica.*, **4**: 1-9.
- Hannachi., 2013. Analyse diallèle de quelques caractères associés à l'adaptation du blé dur (*Triticum durum* Desf.) au climat semi-aride. Mémoire de Magister, Université Saad Dahlab de Blida. 106 p.
- Hannachi A., Z.Fellahi, H.Bouzerzour, A.Boutekrabt. 2013. Correlation, Path Analysis and Stepwise Regression in Durum Wheat (*Triticum Durum* Desf.) under Rainfed Conditions. *Journal of Agriculture and Sustainability.*, **3** (2) :122-131.
- Hanson AD., WD. Hitz. 1982. Metabolic responses of mesophytes to plant water deficits. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, **33**: 163-203
- Hanson AD., CE. Nelsen, AR. Pedersen, EH. Everson. 1979. Capacity for proline accumulation during water stress in barley and its implication for breeding for drought resistance. *Crop Sci.*, **19**: 489.
- Hatfield JL., PJ. Pinter Jr E. Chasserary, CE. Ezra, RJ. Reginato, SB. Idos, RD. Jackson .1984. Effect of panicles on infrared thermometer measurements of canopy temperature in wheat. *Agric. For. Meteorol.*, **32**:97-105.
- Havaux M., RJ.Strasser, H.Greppin.1991. A theoretical and experimental analysis of the q_p and q_N coefficients of chlorophyll fluorescence quenching and their relation with photochemical and nonphotochemical events. *Photosynth Res.*, **27**:41-55.
- Havaux M., M. Ernez, R. Lannoye.1988. Correlation between heat tolerance and drought tolerance in cereals demonstrated by rapid chlorophyll fluorescence tests. *Journal of Plant Physiology.*, **33**: 55-560.
- Hays D B., J.H. Do, RE. Mason, G. Morgan, SA. Finlayson. 2007. Heat stress induced ethylene production in developing wheat grains induces kernel abortion and increased maturation in a susceptible cultivar. *Plant Sci.*, **172**: 1113-1123.
- Havaux M., F. Tardy. 1999. Loss of chlorophyll with limited reduction of photosynthesis as an adaptive response of Syrian barley landrace to high light and heat stress". *Australian Journal of Plant Physiology.*, **26**: 569- 578
- Hiscox J D., GF. Israelstam. 1979. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. *Canadian Journal of Botany.* Vol. **57**, p.1332-1334.
- Hussain F., M.Rafiq,Z.Iqbal,J.Iqbal,. M.A. Chowdhry.2013. Estimates of heritability and genetic advance for grain yield and yield components in different segregating population of wheat. *J. Agric. Res.*, **51**: 17- 23.
- Iba K., 2002. Acclimation response to temperature stress in higher plants. *Annu. Plant. Biol.*, **53**:225-245.
- Ibrahim A., J.S. Quick. 2001. Heritability of heat tolerance in winter and spring wheat. *Crop Sci.*, **41**:1401-1405.
- IGC., 2012. Grain market report", GMR No. 420. www.igc.int.
- Jagtap V., S. Bhargava, P. Streb, J. Feieraben. 1998. Comparative effect of water, heat and light stresses on photosynthetic reactions in *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *J. Exp. Bot.*, **49**: 1715-1721.
- Jangpromma N., S.Kitthaisong, S.Daduang, P.Jaisil, S.Thammasirirak. 2007. 18KDa protein accumulation in sugarcane leaves under drought stress conditions. *Kmitl.Sci. Tech. J.*, **7**: 27- 44 p.
- Jenner CF., 1994. Effects of exposure of wheat ears to high temperature on dry matter accumulation and carbohydrate metabolism in the grain of two cultivars. 1. Immediate responses. *Aust. J. Plant Physiol.*, **18**: 165- 177.

- Jiang Q., D. Roche, T. A. Monaco, S. Durham. 2006. Gas exchange, chlorophyll fluorescence parameters and carbon isotope discrimination of 14 barley genetic lines in response to salinity. *Field Crops Research* ,**96**: 269–278
- Jiang CD., L.Shi, HY.Gao, G.Schansker, SZ.Tóth, RJ.Strasser. 2006: Development of photosystems 2 and 1 during leaf growth in grapevine seedlings probed by chlorophyll a fluorescence transient and 820 nm transmission in vivo. *Photosynthetica.*, **44**: 454–463.
- Jiang G M., JZ.Sun, HK.Liu, CM.Qu, KJ.Wang, RJ.Guo, KZ.Bai, LM.Gao, TY.Kuang. 2003. Changes in the rate of photosynthesis accompanying the yield increase in wheat cultivars released in the past 50 years. *J. Plant Res.*, **116**: 347–354.
- Johnson RR., NM. Frey, DN. Moss. 1974. Effect of water stress on photosynthesis and transpiration of flag leaves and spikes of barley and wheat. *Crop Sci.*, **14**:724–731.
- Johnson CE., TP .Hernandez.1980 Heritability studies of early and total yield in tomatoes. *Horti.sci.*, **15**:280-285.
- Jones M M., CB. Osmond, NC. Turner. 1980. Osmotic adjustment in expanding and fully expanded leaves of sunflower in response of water deficits. *Aust. J. Plant Physiol.*, **7**: 193-205.
- Joyce PA., D. Aspinall, LG. Paleg. 1992. Photosynthesis and the accumulation of proline in response to water deficit. *Aust. J. Plant Phys.*, **19**: 249-26 1.
- Kadi Z., F.Adjel, H.Bouzerzour. 2010. Analysis of the genotype x environment interaction of Barley grain yield (*Hordeum vulgare* L.) under semi arid conditions. *Advances in Environmental Biology.*, **4**:30-40.
- Kamoshita A., RC. Babu, NM. Boopathi, S. Fukai. 2008. Phenotypic and genotypic analysis of drought-resistance traits for development of rice cultivars adapted to rainfed environments. *Field Crops Research.*, **109**: 1–23
- Key JL, CY.Lin, YM.Chen. 1981. Heat shock proteins of higher plants. *Proc Natl Acad Sci USA.*, **78**: 3256-3530
- Key JL., C.Y. Lin, Y.M. Chen .1985. Heat shock proteins of higher plants. Proceedings of the National Academy of Science, U.S.A., **78**: 2356-2530.
- Khan AS., I.Saleem, Z.Ali.2003 Heritability of various morphological traits in wheat. *Int. J. Agric. Biol.*, **5**: 138-140.
- Kim S-H., CG. Dennis, CS. Richard, TB. Jeffrey, JT. Dennis, RR. Vangimalla. 2007. Temperature dependence of growth, development and photosynthesis in maize under elevated CO₂ . *Environ Exp Bot.*, **61**:24–236
- Kimpel J A J., L. Key. 1985. Presence of heat shock mRNAs in field grown soybeans. *Plant Physiology.*, **79**: 672-678.
- Komatsu S., A.Muhammad, R.Rakwal. 1999. Separation and characterization of proteins from green and etiolated shoots of rice (*Oryza sativa* L.): towards a rice proteome. *Electrophoresis.*, **20**: 630-636
- Krause G H. , E. Weis. 1991. “Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics”. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol.* Vol. **42**, p. 313–349.
- Krause GH., 1988. Photoinhibition of photosynthesis. An evaluation of damaging and protective mechanisms. *Physiol. Plant.*, **74**: 566-574.
- Krause GH., E. Weis. 1984. Chlorophyll fluorescence as a tool in plant physiology: II. Interpretation of fluorescence signals. *Photosynth. Res.*, **5**:139–157.
- Krause GH., 1995. Photoinhibition of photosynthesis.An evaluation of damaging and protective mechanisms.*Physiologia Plantarum.*, **74**: 566-574.

- Krishhman S., DP. Mishra, RK. Gupta.1989.Changes in content of chlorophyll, proteins and lipids in whole chloroplast and chloroplast membrane fractions at different leaf water potentials in drought resistant and sensitive genotypes of wheat.*Photosynthetica.*, **21**:65-70.
- Kueh JSH., JM.Hill, SJ.Smith, SWJ.Bright. 1984 Proline biosynthesis in a proline-accumulating barley mutant. *Phytochemistry.*,**23**: 2207–2210.
- Laemmli UK.,1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.*, **227**: 680-685.
- Lambrides CJ., SC.Chapman, R.Shorter.2004. Genetic Variation for Carbon Isotope Discrimination in Sunflower: Association with Transpiration Efficiency and Evidence for Cytoplasmic Inheritance, *Crop Sci.*, **44** : 1642–1653.
- Lawlor DW., 1987. Molecular, physiological and environmental processes. p. 99-103. In Abrol, Y.P., P. Mohanty, and J. Govindjee.photosynthesis-Photoreactions to the Plant Productivity 2nd Ed. Oxford and IBH Publishing Co. PVT Ltd, New Delhi.
- Leonardis A M., D. Marone, E. Mazzucotelli, F. Neffar, F. Rizza, N. Di Fonzo, L. Cattivelli, A.M. Mastrangelo. 2007. Durum wheat genes up-regulated in the early phases of cold stress are modulated by drought in a developmental andgenotype dependent manner, *Plant Science.*, **172**: 1005–1016.
- Levitt J., 1980. Responses of plants to environmental stresses. I-Chilling, freezing and high temperature. *Academic Press., New York, USA.* 607 pages.
- Li R., P. Guo, M. Baum, S. Grando, S. Ceccarelli. 2006. Evaluation of chlorophyll content and fluorescence parameters as indicators of drought tolerance in barley. *Agricul. Sci. China.*, **5**: 751-757
- Lin CY., JK. Roberts, JL. Key. 1984. Acquisition of thermo-tolerance in soybean seedlings. *Plant Physiol.*, **74**:152-160.
- Lin CY., YM. Chen, JL. Key. 1985. Solute leakage in soya bean seedlings under vanous heat shock regimes. *Plant Ce11 Physiol.*, **26**: 1493-1498.
- Lin CS., MR. Binns. 1988. A superiority measure of cultivar performance for cultivar x location data. *Can. J. Plant Sci.*, **68**: 193-198.
- Lindquist S., 1986. The heat shock response. *Ann. Rev. Biochem.*, **55**:1151-1191.
- Lindquist S., E A. Craig. 1988. The heat-shock proteins. *Annu. Rev. Genet.*, **22**: 631-677.
- Lobell D B., MB. Burke, C. Tebaldi, MD. Mastrandrea, WP. Falcon, RL. Naylor. 2007. Priorizing climate change adaptation needs for food security in 2030. *Nature.*, **319**: 607–610
- Lobell D B., A. Sibley, J I. Ortiz-Monasterio. 2012. Extreme heat effects on wheat senescence in India. *Nature Climate Change.*, **2**: 186-189.
- Long SP., S.Humphries, PG.Falkowski. 1994. Photoinhibition of photosynthesis in nature. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **45**: 633-662.
- Lopes M., M P. Reynolds. 2010. Partitioning of assimilates to deeper roots is associated with cooler canopies and increased yield under drought in wheat. *Func. Plant Bio.*, **37**: 147–156.
- Lu C., Zhang J. 1999. Modifications in photosystem II photochemistry in senescent leaves of maize plants.*J. Exp. Bot.*, **49**: 1671–1679.
- Lu CM., JH. Zhang. 2000. Heat induced multiple effects on PS II in wheat plants". *Journal of Plant Physiology.*,**156**: 259-265,
- Ludlow MM., RC. Muchow. 1990. Critical evaluation of traits for improving crop yields in water-limited environrnents. *Adv. Agron.*, **43**: 107- 153.

- Maimiroli N., V. Terzi, M. Ooardi, M. Stanca, C. Lorenzoni. 1986. Protein synthesis during cold shock in barley tissues: comparison of two genotypes with winter and spring growth habit. *Theoretical and Applied Genetics.*, **73**: 190–196.
- Malik SI., HN. Malik, NM. Minhas, M. Munir. 2004: General and specific combining ability studies in maize diallel crosses. *Int. J. Agri. Biol.*, **6** (5) : 856-859.
- Mandal SM., D. Chakraborty, K. Gupta.2008. Seed Size variation: Influence on germination and subsequent seedling performance in *Hyptis suaveolens* (Lamiaceae). *Res. J. Seed Sci.*, **1**: 26-33.
- Mansfield MA., J L. Key. 1987. Synthesis of the low molecular weight heat shock proteins in plants. *Plant physiol.*, **84** :1007-1017.
- Martin MA., JH.Brown, H Ferguson. 1989. Leaf water potential, relative water content, and diffusive resistance as screening techniques for drought resistance in barley. *Agron. J.*, **81**: 100-105.
- Martin M., F. Miceli, JA. Morgan, M. Scalet, G. Zerbi. 1993. Synthesis of osmotically active substances in winter wheat leaves is related to drought resistance of different genotypes. *Agron. and Crop Sci.*, **171** : 76- 184.
- Maxwell K., G.N. Johnson. 2000. Chlorophyll fluorescence: A practical guide. *J. Exp. Bot.*, **51**:659–668.
- Mekhlouf A., H.Bouzerzour, A.Bemahammed, A.Hadj Sahraoui,N.Harkati. 2006. Adaptation des variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.) au climat semi- aride. *Sécheresse.*, **17** (4) :507-513.
- Mekhlouf A., F.Dehbi, H.Bouzerzour, A.Hannachi, A.Benmahammed, A.Adjabi. 2006. Relationships between cold tolerance, grain yield performances and stability of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) genotypes grown at high elevation area of Eastern Algeria. *Asian Journal of Plant Sciences.*, **5**:700-708.
- Mishra RK., GS. Singhal. 1992. Function of photosynthetic apparatus of intact wheat leaves under high light and heat stress and its relationship with peroxidation of thylakoid lipids. *Plant Physiol.*, **98**:1–6.
- Moffat JM., Sears, RG. Paulsen, GN. 1990. Wheat high temperature tolerance during reproductive growth. I. Evaluation by chlorophyll fluorescence. *Crop Sci.*, **30**: 881-885.
- Mohammadi M., RA.Karimizadeh, MR.Naghavi. 2009. Selection of bread wheat genotypes against heat and drought tolerance based on chlorophyll content and stem reserves. *J Agric Soc Sci.*, **5**:119-122.
- Mohanty N., P.Mohanty .1988. After-effect of elevated temperature on the development of photosynthetic characteristics in wheat seedlings. *Journal of Plant Physiology.*, **133**:235-239.
- Moinuddin R A F., KD.Sayre, MP.Reynolds.2005.Osmotic adjustment in wheat in relation to grain yield under water deficit environments. *Agron. J.*, **97**:1062-1071.
- Morgan LM., 1983. Osmoregulation as a selection criterion for drought tolerance in wheat. *Aust. J. Agric. Res.*, **34**: 607-614.
- Morgan JM., 1984. Osmoregulation and water stress in higher plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.*,**35**: 299-3 19.
- Morgan LM., 1991. A gene controlling differences in osmoregulation in wheat. *Aust. J. Plant Physiol.*, **18**: 249-257.

- Morgan J M., 2000. Increases in grain yield of wheat by breeding for an osmoregulation gene: relationship to water supply and evaporative demand. *Aust. J. Agr. Res.*, **51**: 971–980.
- Moustakas M., G. Ouzounido, R. Lmnoye. 1993. Rapid screening for aluminum tolerance in cereals by use of chlorophyll fluorescence test. *Plant Breed.*, **111**: 343-346.
- Munns R., CJ. Brady, EWR. Barlow. 1979. Solute accumulation in the apex and leaves of wheat during water stress. *Aust. J. Plant Physiol.*, **6**: 379-389.
- Murakami T., S. Matsuba, H. Funatsuki, K. Kaeaguchi, H. Saruyama, M. Tanida, Y. Sato. 2004. Over-expression of a small heat shock protein, HSP17.7, confers both heat tolerance and UV-B resistance to rice plants. *Mol. Breed.*, **13**:165-175.
- Nageswara Rao RC., HS. Talwar, GC. Wright. 2001. Rapid assessment of specific leaf area and leaf nitrogen in peanut (*Arachis hypogaea* L.) using a chlorophyll meter. *J. Agron. Crop. Sci.*, **186**: 175-182.
- Nouar H., L. Haddad, Z. Laala, A. Oulmi, H. Zerargui, A. Benmahammed, H. Bouzerzour. 2010. Performances comparées des variétés de blé dur : Mohammed Ben Bachir, Waha et Boussalam dans la wilaya de Sétif. *Céréaliculture.*, **54**: 23-29.
- Nouar H., H.Bouzerzour, L.Haddad, A.Menad, T.Hazmoune, H.Zerargui. 2012. Genotype x Environment Interaction Assessment in Durum Wheat (*Triticum durum* Desf.) using AMMI and GGE Models. *Adv. Environmental Biology.*, **6** : 3007-3015.
- Nouar H., 2015. Contribution à l'étude de l'interaction génotype- environnements du blé dur (*Triticum durum* Desf.) sous climat méditerranéen : Application des modèles de la régression conjointe et l'AMMI. Thèse de Doctorat des Sciences, Fac SNV. Université Ferhat ABBAS, Sétif-1. 130p.
- Nouri A., A. Etminan, JA. Teixeira da Silva, R. Mohammadi. 2011. Assessment of yield, yield-related traits and drought tolerance of durum wheat genotypes (*Triticum turgidum* var. *durum* Desf.). *Aust. J. Crop Sci.*, **5**:8-16
- Ommen OE., A.Donnely, S.Vanhoutvin, M Van.Oijen, R.Manderscheid.1999. Chlorophyll content of spring wheat flag leaves grown under elevated CO2 concentrations and other environmental stresses within the 'ESPACEwheat' project. *Eur J Agron.*, **10**:197-203.
- Osmond C B., MP.Austin, JA.Berry, WD.Billings, JS.Boyer, JWH.Dacey, PS.Nobel, SD.Smith, WE. Winner. 1987. Stress physiology and the distribution of plants. *Biological Science.*, **37**:38-48
- Ougham H J., J L. Stoddart. 1986. Synthesis of heat-shock protein and acquisition of thermo tolerance in high-temperature tolerant and high temperature susceptible lines of *Sorghum bicolor*. *Plant Physiology.*, **44**: 163–168.
- Oukarroum A., S.El Madidi, G.Schansker, RJ.Strasser. 2007. Probing the responses of barley cultivars (*Hordeum vulgare* L.) by chlorophyll a fluorescence OLKJIP under drought stress and re-watering. *Environ. Exp. Bot.*, **60**: 438–446.
- Paknejad F., M.Nasri, HRT.Moghadam, H.Zahedi, MJ.Alahrnadi. 2007. Effects of drought stress on chlorophyll fluorescence parameters, chlorophyll content and grain yield of wheat cultivars. *J Biol Sci.*, **7**:841-847.
- Palfi G., M. Bito, R. Palfi. 1973. Free proline and water deficit in plant tissues. *FiziolRast.*, **20**: 233-238.
- Panter DM., F.L.Allen. 1995. Using besfe b^ear predictions to enhance breeding for yield in soybeanI. Choosing parents. *Crop Sd.*, **35**:397-405.

- Panwar D., I. Singh. 2000. Genetic variability and character association of some yield components in winter x spring nursery of wheat. *Adv. Plant Sci.*, **8**(1):95-99.
- Pask A.J.D., J. Pietragalla, D.M. Mullan, M.P. Reynolds. 2012. Physiological Breeding II: A Field Guide to Wheat Phenotyping. Mexico, D.F.: CIMMYT. Eds. pp
- Peltonen J., A. Virtanen, E. Haggren. 1995. Using a chlorophyll method to optimize nitrogen fertilizer application for intensively managed small-grain cereals. *J. Agron. Crop Sci.*, **174**: 309-318.
- Pinter Jr P.J., G. Zipoli, R.J. Reginato, R.D. Jackson, S.B. Idso. 1990. Canopy temperature as an indicator of differential water use and yield performance among wheat cultivars. *Agric. Water Manag.*, **18**: 35-48.
- Porter D R., H.T. Nguyen, J.J. Burke. 1995. Genetic control of acquired high temperature tolerance in winter wheat. *Euphytica.*, **83**:153-157.
- Porter J.R., M. Gawith. 1999. Temperature and the growth and development of wheat: a review. *Eur J Agron.*, **10**: 23-36
- Pramoda H P., S. Gangaprasad. 2007. Biometrical basis of handling segregation population for improving productivity in onion (*Allium cepa* L.). *J. Asian Hort.*, **3**: 278-280.
- Quartacci M.F., C. Pinzino, C.L.M. Sgherri, F. Navari-Izzo. 1995. Lipid composition and protein dynamics in thylakoids of two wheat cultivars differently sensitive to drought. *Plant Physiol.*, **108**: 191-197.
- Rachmilevitch S., H. Lambers, B. Huang. 2006. Root respiratory characteristics associated with plant adaptation to high soil temperature for geothermal and turf-type *Agrostis* species. *Journal of Experimental Botany.*, **57**:623-631
- Rahim M., I. Ullah, M. Ashraf, J.M. Stewart, Y. Zafar. 2006. Genotypic variation for drought tolerance in cotton (*Gossypium hirsutum* L.): Productivity, osmotic adjustment and cellular membrane stability. Proceedings of International Symposium on Strategies for Crop Improvement against Abiotic Stresses. September 18-20, Department of Botany University of Agriculture, Faisalabad, Pakistan, p. 24-28.
- Rebetzke G J., R.A. Richards, N.A. Fettell, M. Long, A.G. Condon, R.I. Forrester, T.L. Botwright. 2007. Genotypic increases in coleoptile length improves stand establishment, vigour and grain yield of deep-sown wheat. *Field Crops Research.*, **100**:10-23.
- Rekika D., Y. Kara, I. Souyris, M.M. Nachit, A. Asbati. 2000. The tolerance of PSII to high temperatures in durum wheat (*T. turgidum* conv. *durum*): genetic variation and relationship with yield under heat stress. *Cereal Res. Comm.*, **28**:395-402.
- Reynolds M., M. Balota, M. Delgado, I. Amani, R. Fischer. 1994. Physiological and morphological traits associated with spring wheat yield under hot, irrigated conditions. *Funct Plant Biol.*, **21**: 717-730
- Reynolds M P., R.P. Singh, A. Ibrahim, O.A. Ageeb, A. Larqué-Saavedra, J.S. Quick. 1998. Evaluation physiological traits to complement empirical selection for wheat in warm environments. *Euphytica.*, **100**:85-94.
- Reynolds M P., A. Mujeeb-Kazi, M. Sawkins. 2005. Prospects for utilizing plant-adaptive mechanisms to improve wheat and other crops in drought- and salinity prone environments. *Ann. Appl. Biol.*, **146**: 239-259.
- Reynolds M P., C.S. Pierre, A.S.I. Saad, M. Vargas, A.G. Condon. 2007. Evaluating potential genetic gains in wheat associated with stress-adaptive trait expression in elite genetic resources under drought and heat stress. *Crop Sci.*, **47**: S-172-S-189.
- Reynolds M.P., Y. Manes, A. Izanloo, P. Langridge. 2010. Phenotyping approaches for physiological breeding and gene discovery in wheat. *Ann Appl Biol.*, **155**: 309-320

- Richards RA., GJ. Rebetzke, AG. Condon, AF. van Herwaarden. 2002. Breeding opportunities for increasing the efficiency of water use and crop yield in temperate cereals. *Crop Sci.*, **42**: 111-121.
- Richardson RA., Z. Lukacs, MJ. Rawson. 2002. Seedling vigour in wheat: sources of variation for genetic and agronomic improvement. *Aust J Agric Res.*, **53**: 41-50
- Richards RA., M. Walt, GJ. Rebetzke. 2007. Physiological traits and cereal germplasm for sustainable agricultural systems. *Euphytica.*, **154**: 409-425.
- Ristic Z., U. Bukovnik, PVV. Prasad. 2007. Correlation between heat stability of thylakoid membranes and loss of chlorophyll in winter wheat under heat stress. *Crop Sci.*, **47**: 2067-2073.
- Ritchie SW., HT. Nguyen. AS. Holaday. 1990. Leaf Water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop Science.*, **30**: 105-111.
- Rizhsky L., H. Liang, J. Shuman, V. Shulaev, S. Davletova, R. Mittler. 2004. When defense pathways collide: The response of *Arabidopsis* to a combination of drought and heat stress. *Plant Physiology.*, **134**: 1683-1696
- Rizza F., FW. Badeck, L. Cattivelli, O. Lidestri, NDi. Fonzo, AM. Stanca. 2004. Use of a water stress index to identify barley genotypes adapted to rainfed and irrigated conditions. *Crop Sci.*, **44**: 2127-2137
- Rose LW., MK. Das, CM. Taliaferro. 2008. A comparison of dry matter yield stability assessment methods for small numbers of genotypes of Bermuda grass. *Euphytica.*, **164** :19-25.
- Saadalla MM., JF. Shanahan, JS. Quick. 1990. Heat tolerance in winter wheat. I. Hardening and genetic effects on membrane thermostability. *Crop Sci.*, **30**: 1243-1247.
- Sachs MM., Ho. THD. 1986. Alteration of gene expression during environmental stress in plants. *Annu Rev Plant Physiol.*, **37**: 363-376.
- Saini HS., M. Sedgley, D. Spinall. 1983. Effect of heat stress during floral development on pollen tube growth and ovary anatomy in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Aust. J. Plant Physiol.*, **10**: 137-144.
- Sairam RK., DC. Saxena. 2000. "Oxidative Stress and Antioxidants in Wheat Genotypes: Possible Mechanism of Water Stress Tolerance". *Journal of Agronomy and Crop Science.*, **184**: 55-61
- Salisbury F B., CW. Ross. 1991. Plant Physiology. 4th Edn. Wardswoth Publishing Co., Belmont, CA, U.S.A.
- Sanchez-Rodriguez E., M. Rubio-Wilhelmi, LM. Cervilla, B. Blasco, JJ. Rios, MA. Rosales, L. Romero, JM. Ruiz. 2010. Genotypic differences in some physiological parameters symptomatic for oxidative stress under moderate drought in tomato plants. *Plant Sci.*, **178**: 30-40.
- Santarmaria JM., MM. Ludlow, S. Fukai. 1990. Contribution of osmotic adjustment to grain yield in *Sorghum bicolor* L. under water-limited conditions: 1. Water stress before anthesis. *Aust. J. Agric. Res.*, **41** : 51-65.
- Savic J., I. Dragicevic, D. Pantelic, J. Oljaca, I. Momcilovic. 2012. Expression of small heat shock proteins and heat tolerance in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Arch. Biol. Sci., Belgrade.*, **64**: 135-144
- Sayar R., H. Khemira, A. Kameli, M. Mosbahi. 2008. Physiological tests as predictive appreciation for drought tolerance in durum wheat (*T. durum* Desf.). *Agronomy research.*, **6**: 79-90

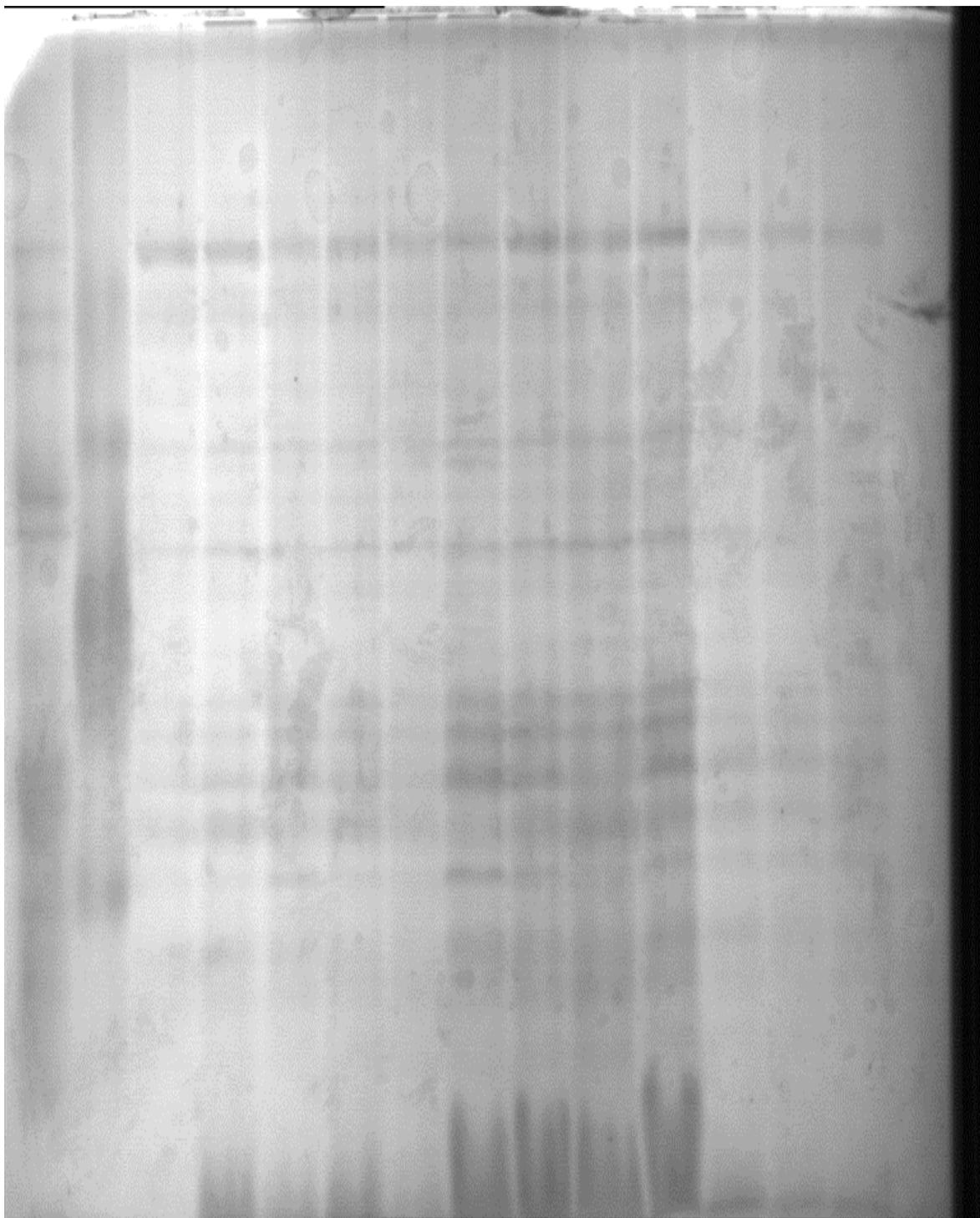
- Sayed OH., 2003. Chlorophyll fluorescence as a tool in cereal crop research. *Photosynthetica.*, **41**:321–330.
- Schreiber U., 1993. Chlorophyll fluorescence as a noninvasive indicator for rapid assessment of in vivo photosynthesis. In Ernst-Detlef, S. and M.M. Caldwell (ed.). Ecological Studies, Vol. 10, Ecophysiology of Photosynthesis. Springer-Verlag.
- Setimela PS., DJ. Andrews, J. Partridge, KM .Eskridge .2005. Screening sorghum seedlings for heat tolerance using a laboratory method. *Europ. J. Agronomy.*, **23** : 103–107
- Sharma-Natu P., KV. Sumesh, VD. Lohot, MC. Ghildiyal.2006. High temperature effect on grain growth in wheat cultivars: An evaluation of responses. *Indian Journal of Plant Physiology.*, **11**:239-245.
- Schreiber U., U.Schliwa, W.Bilger. 1986. Continuous recording of photochemical and non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer. *Photosynth. Res.*, **10**: 51-62.
- Schuhwerk D., A.Nakhforoosh, S.Kutshka, G.Bodner, H.Rausgruber. 2011. Field-screening of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) for drought tolerance. In Tagung der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs. 2010, p. 147-154. LFZ Raumberg-Gumpenstein, Irdning, Austria.
- Shukla RS., Y.Mishra, GS.Rawat. 2006. Genetic analysis for screening of high temperature and moisture stress tolerance attributes in wheat (*Triticum aestivum*). *Crop Res.*, **25**: 63-67.2006.
- Singh SP., R.Nodari,P.Gepts.1991. Genetic diversity in cultivated common bean : I. Allozymes. *Crop sci.*, **31** :19-23 thes issue.
- Singh TT., KK.Gupta.1994.Genetic diversity for yield and related traits in lentil *Lens culinaris* Medik. *Plant Archives.*, **41**(1): 39-43.
- Singh KB., et al. 2006. Current status and further strategy in breeding chickpea for resistance to biotic and abiotic stresses. *Euphytica.*, **73** : 137-149.
- Sharkey T D., 2005. Effect of moderate heat stress on photosynthesis: importance of thylakoid reactions, rubisco deactivation, reactive oxygen species, and thermotolerance provided by isoprene. *Plant Cell Environ.*, **28**:269–277.
- Shukla A K., JK.Ladha, VK.Singh, BS.Dwivedi, V.Balasubramanian, RK.Gupta, SK.Sharma, Y.Singh, HP.Athak, PS.Pandey, AT.Padre, RL. Yadav. 2004. Calibrating the leaf color chart for nitrogen management in different genotype of rice and wheat in a systems perspective. *Agron. J.*, **96**: 1606–1621.
- Shukla RS., Y.Mishra, GS.Rawat. 2006. Genetic analysis for screening of high temperature and moisture stress tolerance attributes in wheat (*Triticum aestivum*). *Crop Res.*, **25**: 63-67.
- Schuster G., R.Timberg, I.Ohad. 1988.Turnover of thylakoid photosystem II proteins during photoinhibition of *Chlamydomonas reinhardtii*, *Eur. J. Biochem.*, **177** : 403-410.
- Shang W., J.Feierabend.1998. Slow turnove of the D1 reaction center protein of photosystem II in leaves of high mountain plants. *FEBS letters.*, **425** :97-100
- Sipos J., RK. Prange. 1986. Response of ten potato cultivars to temperature as measured by chlorophyll fluorescence *in vivo*. *Am. Potato. J.*, **63**:683-694
- Slafer GA., JL. Araus, C. Royo, L. Garcia Del Moral. 2005. Promising eco-physiological traits for genetic improvement of cereal yields in Mediterranean environments. *Annals of Applied Biology.*,**146**: 61-70
- Spagnoletti-Zeuli TL., PO.Qualset.1990. Flag leaf variation and the analysis of diversity in durum wheat. *Plant Breeding.*, **105**: 189 - 202.

- Spiertz JHJ., H. Van de Haar, JP. Kupers. 2006. Differences in grain growth, crop photosynthesis and distribution of assimilates between a semi dwarf and a standard cultivars of Winter wheat. *Neth. J. Agric. Sci.*, **23** : 233-249
- Spiertz J., N.De Vos. 1983. Agronomical and physiological aspects of the role of nitrogen in yield formation of cereals. *Plant and soil.*, **75**(3) :379–391.
- Steel RGD., JH. Torrie. 1980. Principles and procedures of statistics. *McGraw-Hill Books, New York*. 280 pages.
- Stewart CR., SF. Bogges. 1978. Metabolism of proline by barley leaves and its use in measuring the effects of water stress on proline oxidation. *Plant Physiol.*, **61**: 654-657.
- Sullivan C Y., WM.Ross. 1979. Selecting for drought and heat resistance in grain sorghum. Pages 263–281 in H. Mussell and R. Staples, eds. *Stress physiology in crop plants*, John Wiley and Sons, New York, NY.
- Takeuchi TS., JP. Thornber. 1994. Heat-induced alternations in thylakoid membrane protein composition in barley. *Aust. J. Plant Physiol.*, **21**:759–770.
- Talebi R., 2011. Evaluation of chlorophyll content and canopy temperature as indicators for drought tolerance In durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *Australian Journal of Basic and Applied Sciences.*, **5**: 1457-1462
- Teng S., Q. Qian, D. Zeng, Y. Kunihiro, K. Fujimoto, D. Huang, L. Zhu. 2004. QTL analysis of leaf photosynthetic rate and related physiological traits in rice (*Oryza sativa* L.). *Euphytica* .,135:1-7
- Teulat B., P. Monneveux, J. Wery, C. Borries, I. Souyris, A. Charrier, D. This. 1995. Relationships between relative water content and growth parameters under water stress in barley: a QTL study. *New Phytol.* **137**: 99 – 107
- Turner NC., 1997. Further progress in crop water relations. *Advances in Agronomy.*, **58**: 293-338.
- Tyagi W S., Singla-Pareek, S.Nair, MK.Reddy, SK.Sopory .2006. A novel isoform of ATPase c subunit from pearl millet that is differentially regulated in response to salinity and calcium. *Plant Cell Rep.*, **25**(2):156-63.
- Ullah I., M. Rahmana, M. Ashraf Y. Zafara .2008. Genotypic variation for droughttolerance in cotton (*Gossypium hirsutum* L.):Leaf gas exchange and productivity. *Flora.*, **203**: 105–115
- Vani B., SP. Pardha, PC. Mohanty. 2001. "Characterization of high temperature induced stress impairments in thylakoids of rice seedlings". *Indian Journal of Biochemistry Biophysics.*, **38**: 220-229
- Van-Rensburg L., GJ. Kruger .1993. Differential inhibition of photosynthesis (*in vivo*) and (*in vitro*), and changes in chlorophyll a fluorescence induction kinetics of four tobacco cultivars under drought stress, *J. Plant Physiol.*, **141**: 357-365.
- Vierling E., 1991. The role of heat shock proteins in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology.*, **42**: 579-620.
- Wahid A., A. Ghazanfar. 2006. Possible involvement of some secondary metabolites in salt tolerance of sugarcane. *J. Plant Physiol.*, **163**:723–730.
- Wahid A., S. Gelani, M. Ashraf, MR. Foolad. 2007. Heat tolerance in plants: An overview. *Environ. Exp. Botany.*, **61**:199–223.
- Waines JG., 1994. High temperature stress in wild wheats and spring wheats". *Australian Journal of plant physiology.*,**21**: 705-715.
- Wang W., B.Vinocur, A. Altman. 2003. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta.*, **218**:1-14.

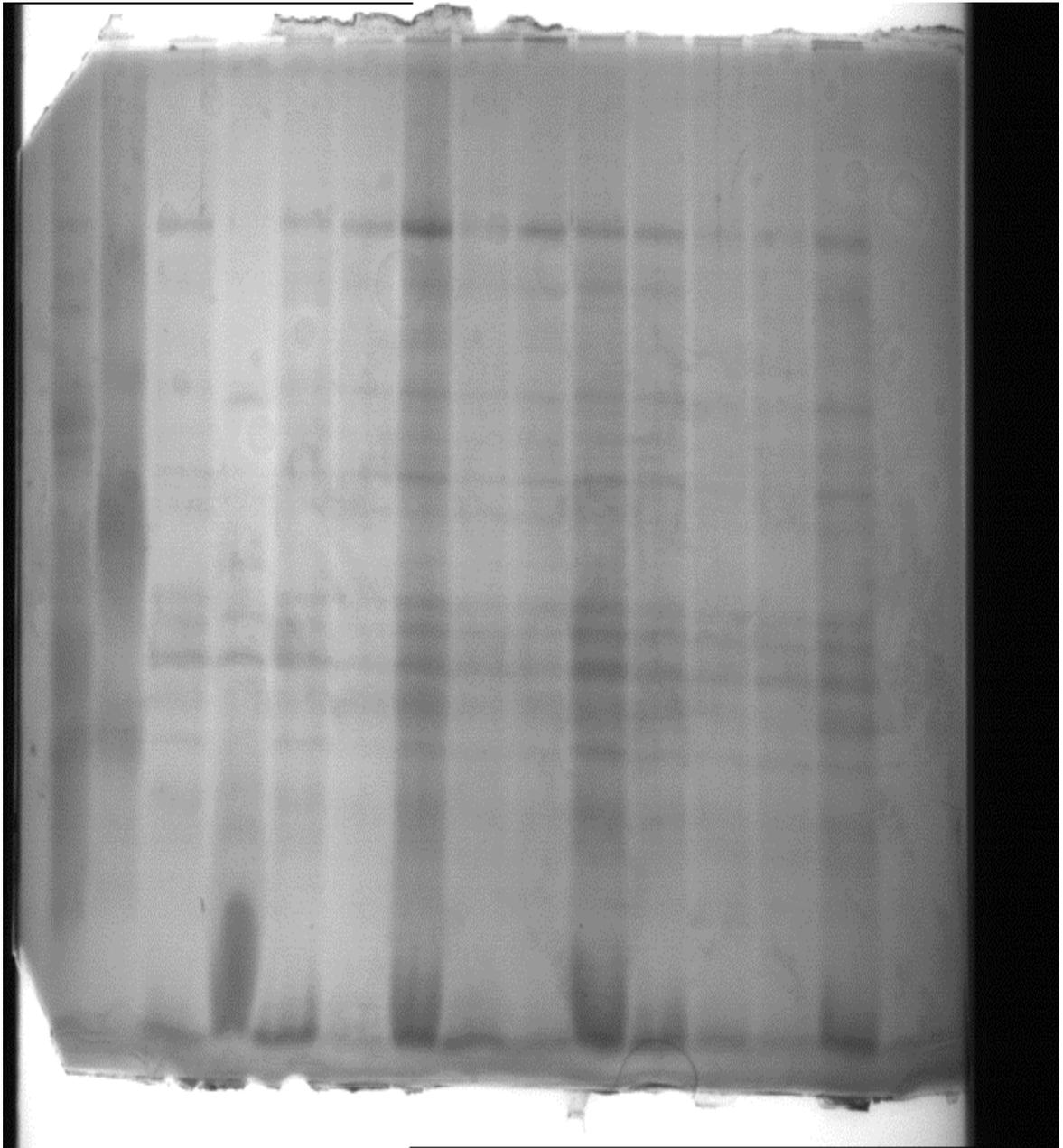
- Wang D., DS. Luthe. 2003. Heat sensitivity in a bentgrass variant: failure to accumulate a chloroplast heat shock protein isoform implicated in heat tolerance, *Plant Physiol.*, **133**:319–327
- Wardlaw IF., JF. Moncor, CW. Wrigley. 1998. Heat tolerance in temperate cereals: an overview. *Aust J Plant Physiol.*, **21**: 695–703.
- Wardlaw IF., C. Blumenthal, O. Larroque, C. Wrigley. 2002. Contrasting effects of heat stress and heat shock on kernel weight and flour quality in wheat. *Funct. Plant Biol.*, **29**:25–34.
- Watanabe N., JR. Evans, WS. Chow. 1994. Changes in the photosynthetic properties of Australian wheat cultivars over the last Century. *Aust. J. Plant Phy.*, **21**: 169- 183.
- Xu CC., HY. Lee, CH. Lee. 1999. "Recovery from low temperature photo inhibition is not governed by changes in the level of zeaxanthin in rice (*Oryza sativa* L.) leaves". – 761
- Xu XL., ZM. Wang, JP. Zhang. 2001. Effect of heat stress on photosynthetic characteristics of different green organs of winter wheat during grain-filling stage". *Acta Bot. Sci.*, **43**: 571-577
- Yamaguchi K., H.Mori, M.Nishimura.1995. A novel isoenzyme of ascorbate peroxidase localized on glyoxysomal and leaf peroxisomal membranes in pumpkin. *Plant Cell Physiol.*,**36**:1157–1162
- Yancey PH., ME.Clark, SC.Hand, RD.Bowlus, GN.Somero. 1982. Living with water stress: Evolution of osmolyte systems. *Science.*, **217**:1214–1222
- Yang ZM., SJ. Zheng, AT. Hu, YF. Zheng, JY. Yan. 2000. Response of cucumber plants to increase UV-B radiation under water stress". *Journal of Environmental Sciences.*, **12**: 236-240
- Yang GP., D.Rho, RJ.Joly. 1996. Effects of high temperature on membrane stability and chlorophyll fluorescence in glycine betaine-deficient and glycine betaine-containing maize lines. *Aust. J. Plant Physiol.*, **23** (4): 437-443.
- Yang J., RG. Sears, BS. Gill, GM. Paulsen. 2002. Quantitative and molecular characterization of heat tolerance in hexaploid wheat. *Euphytica* **126**:275–282.
- Yemm E W., A J. Willis. 1954. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. *Biochem. J.*, **57**: 508–514
- Zaghouane O., F.Boufenar-Zaghounae, M.Yousfi. 2008. La technologie semencière: la production de semences de céréales à paille en Algérie. ITGC Eds. 138 p.
- Zaharieva M., E. Gaulin, M. Havaux, E. Acevedo, P. Monneveux. 2001. Drought and heat responses in the wild wheat relative *Aegilops* Roth: potential interest wheat improvement". *Crop Science.*, **41**: 1321-1329
- Zhang NIN., JHM. Wilson, NA. Cox, SA. Hall. 1993. Measurement of heat injury in plant tissue by using electrical impedance analysis. *Can. J. Bot.*, **71**: 1605- 1611.
- Zhang J., MB. Kirkham. 1996. "Antioxidant responses to drought in sunflower and sorghum seedlings". *New Phytol.*, **132**: 361-373.
- Zhang CS., Q.Lu, DPS .Verma.1997. Characterization of $\Delta 1$ -pyrroline-5-carboxylate synthetase gene promoter in transgenic *Arabidopsis thaliana* subjected to water stress. *Plant Science.*,**129**:81–89
- Zhang S., ZS. Xu, P. Li, L. Yang, Y. Wei, M. Chen, L. Li, G. Zhang, Y. Ma. 1999. Overexpression of TaHSF3 in transgenic *Arabidopsis* enhances tolerance to extreme temperatures. *Plant Molecular Biology Reporter.*, **31**: 688–697
- Zhang Q., M G. Muller, J. Wu, M S. Feld.2000. "Turbidity-free fluorescence spectroscopy of biological tissue," *Opt. Lett.*, **25** : 1451-1453.

Zivy M., 1987. Genetic variability for heat shock proteins in common wheat. *Theoretical and Applied Genetics.*, **74**: 209–213.

Annexes



Gel 1 de l'électrophorèse des protéines des variétés Bousselam, GTA dur, Waha et Korifla



Gel 2 de l'électrophorèse des protéines des variétés Mrb 3, Ofanto, Vitron et Tajdid

INSTITUT NATIONAL
DE LA
RECHERCHE AGRONOMIQUE
—
CENTRE REGIONAL DE LA RECHERCHE
AGRONOMIQUE DE RABAT
—
BP : 415 AVENUE ENNASR
RABAT RP



المملكة المغربية
المعهد الوطني
للبحث الزراعي
المسند البريدي رقم 415
الرباط

Le11/01/2013

LE RESPONSABLE DE L'UNITE DE BIOTECHNOLOGIE

CENTRE REGIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE DE RABAT

Objet : Rapport de stage de Mme Hamli Sofia

Je soussigne, **Dr Labhilili Mustapha**, responsable de l'Unité de Biotechnologie, Institut National de la Recherche Agronomique (INRA/Rabat), que Mme **Hamli Sofia** a effectué un stage dans notre laboratoire de Biologie Moléculaire dans le cadre de la finalisation de sa thèse de Doctorat des Sciences pendant 24 jours depuis le 19 Décembre 2012 jusqu'au 11 Janvier 2013.

Pendant sa période de stage, Mme **Hamli Sofia** a perfectionnée :

- l'extraction et la purification de l'ADN.
- Initiation à la Bioinformatique : Axés au base des données comme l'utilisation des outils Bioinformatique (tous ce qui de recherche des séquences ; gènes ; nucléotides et protéines)
- L'utilisation de l'outil Blast (Primer Blast pour la localisation des amorces)
- La séparation des protéines totaux par la technique de SDS-PAGE
- La mesure de la fluorescence chlorophyllienne.
- Mesure de la surface foliaire.

Ces résultats doivent être accomplis par une partie moléculaire qui sera réalisée durant un autre stage envisagé.

Par sa rigueur et ses qualités professionnelles et humaines, Mme **Hamli Sofia** a su trouver sa place au sein de l'équipe. Sa présence a été satisfaisante à tous points de vue.

Fait à Rabat, le 11 /01/2013

Dr Labhilili Mustapha
Unité de Biotechnologie
INRA, RABAT
Tel : 065750249/0377755530/037774489
Fax : 0377755530/037774489
Labhili@awamia.inra.org.ma